

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN E INGENIERÍA AMBIENTAL

**PATRONES DE INGESTA SANGUÍNEA DE CULÍCIDOS (DIPTERA) EN USOS
DEL SUELO URBANOS Y RURALES DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES**

**Trabajo de Tesis para optar por el título de
Doctor en Ciencias Ambientales**

Por: Bióloga. Karelly Melgarejo Colmenares

Director de Tesis: Dr. Darío Vezzani

Co-directora: Dra. María Victoria Cardo

**Lugar de Trabajo: IIIA-UNSAM-CONICET, Instituto de Investigación e Ingeniería
Ambiental, Escuela de Hábitat y Sostenibilidad, San Martín,
Provincia de Buenos Aires, Argentina.**

Febrero 2025



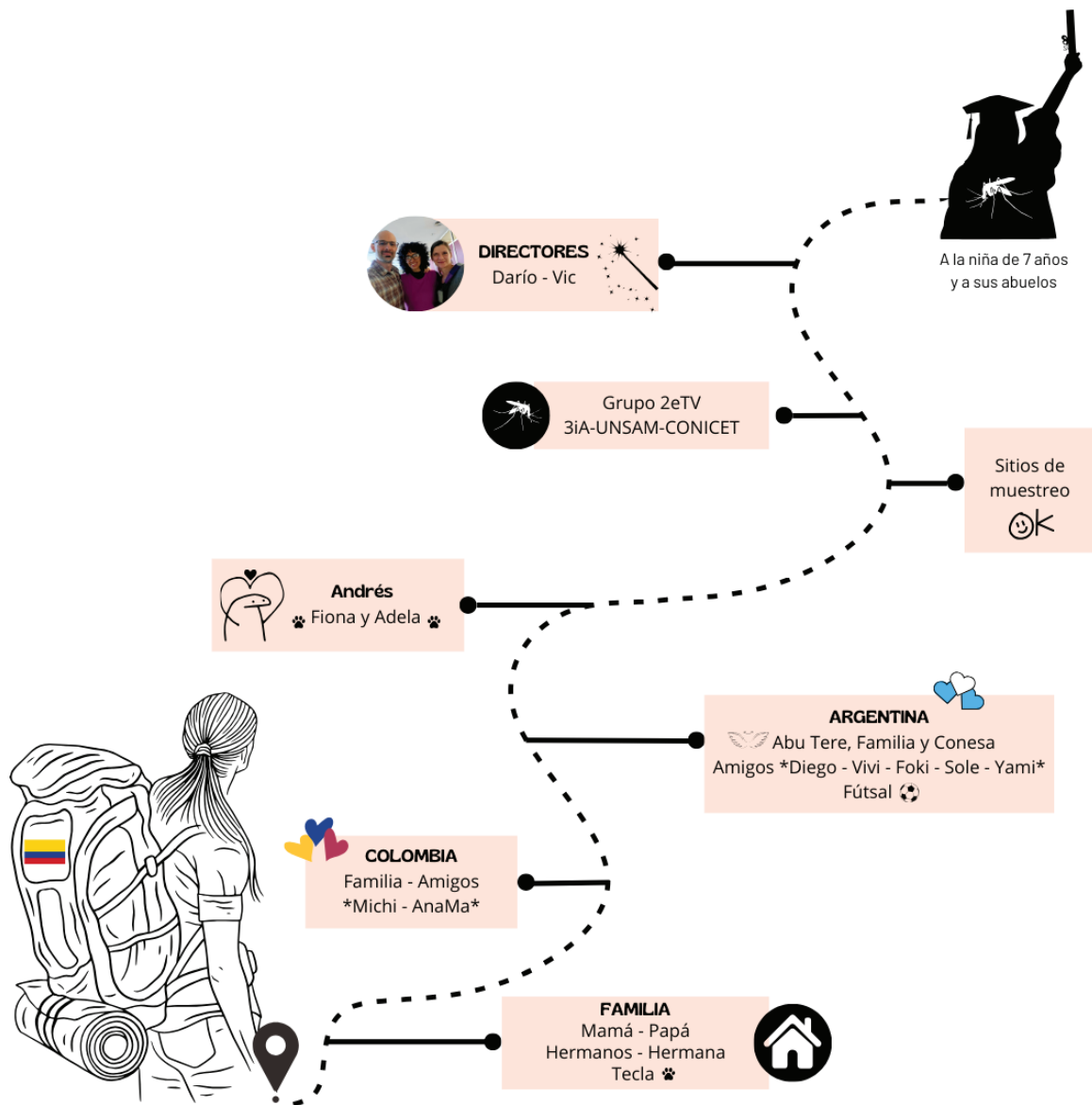
*“Un científico en su laboratorio
[o en el campo, adiciono]
no es un simple técnico,
también es un niño que se enfrenta a
fenómenos naturales que lo impresionan
como si fueran cuentos de hadas”*

Marie Curie (1867 – 1934)

*A quienes que más
quiero.*

AGRADECIMIENTOS

No te das cuenta de cuantas personas han estado a tu lado hasta que te sientas en una silla frente a tu computadora y piensas en todo lo que ha sucedido a lo largo de casi seis años, el tiempo dedicado a esta tesis de doctorado. Es la oportunidad de AGRADECER, de expresar lo que ha significado este viaje, y recordar a aquellos que siguen en el camino y a quienes que ya no están. Es el momento del corazón, es el momento de todos.



Quisiera hacer una mención especial a quienes, directa e indirectamente me acompañaron en esta aventura. No hubiese sido posible sin ustedes.

A mis Padres, hermanos y hermana, quienes están SIEMPRE. Gracias por enseñarme el valor de decir “Sí”. Gracias por caminar conmigo y no soltarme la mano nunca. Que sería de mi vida sin ustedes. Los amo y les extraño cada día.

A mis directores, **Dr. Darío Vezzani & Dra. María Victoria Cardo**. Sin su vocación, pasión, entrega, apoyo y paciencia, nada de esto habría pasado. Les agradezco profundamente por recibirme en Argentina y por lo mucho que me enseñaron. Les expreso mi admiración y respeto.

Al grupo de investigación Ecología de Enfermedades Transmitidas por Vectores (2eTV) por recorrer este camino juntos.

Al CONICET y el Instituto de Investigación e Ingeniería Ambiental, Escuela de Hábitat y Sostenibilidad – UNSAM, por brindarme la oportunidad de realizar una tesis doctoral.

A la abuela que me regaló este país, Teresa. Donde estés, gracias por cuidarme hasta donde pudiste, espero estés orgullosa y sonriendo junto a mis abuelos. “No tardes tanto, hija”

Andrés María, apareciste en mi vida para enseñarme y recordarme lo que realmente importa. Agradezco a tus princesas, Fiona y Adela, quienes me cuidan y han estado a mi lado cuando he querido o necesitado un abrazo. Sé que no estoy sola, los amo.

A mis amigas y mis amigos, los que están “lejos” como los que están cerca. Gracias por permitirme caer un par de veces y por extender la mano rápidamente para ayudarme a levantarme. La distancia y el tiempo no separan lo verdadero.

Michi y AnaMa, amigas. Estuvieron en todas. Nunca estamos lejos.

“Que triste sería la vida si la alegría no es compartida”

FINANCIAMIENTO

El presente trabajo de tesis fue posible gracias a los siguientes financiamientos de investigación:

- Agencia Nacional para la Promocion de Ciencia y Tecnica (PICT 2018–02033)
- Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET, P-UE 22920200100028CO)

APORTES CIENTÍFICOS DERIVADOS DE ESTA TESIS DOCTORAL

PUBLICACIONES EN REVISTAS CIENTÍFICAS:

Melgarejo-Colmenares K, Cardo MV & Vezzani D (2022) Blood feeding habits of mosquitoes: hardly a bite in South America. *Parasitology Research* 121, 1829–1852.
<https://doi.org/10.1007/s00436-022-07537-0>.

Melgarejo-Colmenares K, Vezzani D, Gallego A & Cardo MV (2024) Blood meal sources of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in domestic and open green environments from two urbanisations of temperate Argentina. *Bulletin of Entomological Research* 114, 30–40.
<https://doi.org/10.1017/S0007485323000573>.

Melgarejo-Colmenares K, Vezzani D, Kliger M & Cardo MV (2025) Overabundant single-host settings as field labs to assess blood meal patterns of mosquitoes. *Medical and Veterinary Entomology*, en prensa.

PATRONES DE INGESTA SANGUÍNEA
DE CULÍCIDOS (DIPTERA)
EN USOS DEL SUELO URBANOS Y RURALES
DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES



RESUMEN	<u>1</u>
ABSTRACT	<u>4</u>
ESQUEMA DE LA TESIS	<u>7</u>
- 1 ——— INTRODUCCIÓN	<u>10</u>
1.1 LOS CULÍCIDOS.	11
1.1.1 Generalidades	11
1.1.2 Ciclo de vida	12
1.1.3 Alimentación del estado adulto	15
Machos y hembras fitófagos	15
La evolución de la hematofagia	16
¿Por qué alimentarse de sangre?	17
1.2 EPIDEMIOLOGÍA E IMPORTANCIA EN SALUD PÚBLICA Y VETERINARIA	19
1.2.1 Mosquitos vectores de patógenos	19
1.3 PATRONES DE INGESTA SANGUÍNEA DE LOS MOSQUITOS	25
1.4 ENFOQUES PARA ESTUDIAR LOS PATRONES DE INGESTA SANGUÍNEA	27
1.4.1 Métodos de colecta de mosquitos	27
1.4.2 Índices para estudiar preferencia	30
1.4.3 Técnicas de identificación de ingesta	31
1.5 LOS MOSQUITOS Y EL AMBIENTE	36
1.6 OBJETIVOS E HIPÓTESIS	38

- 2	ESTADO DE CONOCIMIENTO DE LOS PATRONES DE INGESTA SANGUÍNEA DE MOSQUITOS EN SUDAMÉRICA	<u>40</u>
	2.1 Materiales y métodos	49
	2.2 Resultados	50
	2.3 Discusión	64
	2.4 Anexos	67
	2.5 Referencias bibliográficas de la revisión de literatura	68
- 3	INGESTA SANGUÍNEA DE MOSQUITOS EN FUNCIÓN DEL USO DEL SUELO URBANO	<u>83</u>
	3.1 Materiales y métodos	85
	3.2 Resultados	91
	3.3 Discusión	100
- 4	INGESTA SANGUÍNEA DE MOSQUITOS EN FUNCIÓN DE LA ABUNDANCIA DE VERTEBRADOS	<u>102</u>
	4.1 Materiales y métodos	104
	4.2 Resultados	108
	4.3 Discusión	119
- 5	CONSIDERACIONES FINALES Y CONCLUSIONES	<u>124</u>
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	<u>138</u>

RESUMEN

Las ingestas sanguíneas de los culícidos tienen un rol fundamental en los ciclos de transmisión de patógenos, ya que representan la vía de transmisión de los mismos entre vertebrados. Comprender los patrones de ingesta de culícidos es esencial para evaluar su potencial como vectores de enfermedades, especialmente en ambientes urbanos y rurales donde coexisten con humanos, animales domésticos y fauna silvestre. En la Provincia de Buenos Aires, donde ha sido demostrada la circulación de virus y nematodos transmitidos por mosquitos, la información sobre los patrones de alimentación sanguínea de la mayoría de las especies es limitada. Esta carencia de datos constituyó la principal motivación de esta tesis, cuyo objetivo general es caracterizar los patrones de ingesta sanguínea de mosquitos en usos del suelo urbanos y rurales de la provincia.

Inicialmente, se realizó una revisión exhaustiva y análisis de la información disponible sobre los patrones de ingesta sanguínea de mosquitos en Sudamérica (Capítulo II). Dicho trabajo inicial permitió establecer una línea base del conocimiento e identificar las áreas vacantes que requieren atención. En total, se registraron 172 estudios científicos que abordaron diferentes enfoques metodológicos, desde trampas cebadas hasta análisis de la ingesta de sangre de mosquitos colectados en campo mediante técnicas serológicas y moleculares. Las especies más estudiadas fueron aquellas incriminadas en la transmisión de la malaria, mientras que, otros vectores relevantes como *Aedes aegypti* carecen de estudios en el continente. La gran mayoría de los estudios se realizaron en Brasil, seguido por Colombia y Perú. Para más del 70% de las especies y tres de los 13 países del continente, no existe ninguna información sobre los patrones de ingesta sanguínea de mosquitos. De las 73 especies de mosquitos evaluadas mediante ambos métodos (trampas cebadas y análisis de ingesta), sólo 17 mostraron resultados similares. Para las especies restantes, cada método aportó especies de hospedadores adicionales a la lista general de hospedadores. El análisis del conjunto de estas investigaciones indica que los patrones de ingesta sanguínea varían considerablemente entre especies de mosquitos y según el enfoque metodológico utilizado.

Posteriormente, se abordó el estudio de los patrones de ingesta considerando dos escalas espaciales de estudio. En la primera (Capítulo III), se analizaron los patrones de ingesta sanguínea dentro del ambiente urbano en áreas verdes y domésticas del Área Metropolitana de Buenos Aires (AMBA) y Tandil, localidades de distinto tamaño poblacional. Aunque no se estimó directamente la oferta de vertebrados, se puede inferir a priori que la misma varía entre áreas y localidades. Para el segundo enfoque (Capítulo IV), se diseñó una propuesta alternativa con el fin de superar las limitaciones asociadas a la estimación de la abundancia de vertebrados en estudios de campo, esto es, fijar la abundancia de un vertebrado sobreabundante de manera constante en el espacio y el tiempo. Para

ello, se evaluaron los patrones de alimentación en cinco entornos con sobreabundancia de una especie de vertebrado (hospitales geriátricos, campos ganaderos, guarderías caninas, granja de conejos y granjas de pollos). Durante el desarrollo de la tesis se realizaron capturas activas de mosquitos adultos en reposo mediante aspiradora-mochila a batería y con aspiradores manuales. La identificación taxonómica de los ejemplares se realizó mediante claves dicotómicas y descripciones específicas, excepto para los miembros del complejo *Culex pipiens* que fue realizada mediante técnicas moleculares, al igual que la identificación de las ingestas sanguíneas. Para el análisis de los datos, se utilizaron métodos multivariados y se construyeron redes de interacción mosquito-hospedador.

Respecto al primer enfoque, se identificaron un total de 103 ingestas sanguíneas de *Aedes* (2 especies) y *Culex* (7 especies). Entre estas, 5 especies de mamíferos y 18 de aves fueron reconocidas como hospedadores. Los mosquitos del género *Aedes* se alimentaron exclusivamente de mamíferos, mientras que los del género *Culex* mostraron un rango de hospedadores más amplio, que incluyó tanto aves como mamíferos. En el AMBA, las áreas verdes albergaron una mayor diversidad de especies de mosquitos que las áreas domésticas, aunque ambos presentaron un número similar de especies de vertebrados identificadas en las ingestas. En contraste, en Tandil, las áreas domésticas presentaron más especies tanto de mosquitos como de hospedadores, incluyendo mamíferos y aves, en comparación con las áreas verdes. En estas últimas, solo se colectaron hembras alimentadas de *Ae. albifasciatus*. En las áreas verdes del AMBA y en las áreas domésticas de Tandil, los resultados sugieren cierto grado de selección de hospedadores.

En el segundo enfoque, se identificaron 242 ingestas sanguíneas de *Aedes* (3 especies), *Culex* (4), *Isostomyia* (1) y *Psorophora* (1). Se reconocieron como hospedadores 5 especies de mamíferos y 12 de aves. En general, el 79% de las ingestas sanguíneas correspondieron a los vertebrados sobreabundantes, con un rango que osciló del 67% al 99% en todos los entornos excepto en hospitales geriátricos, donde fue solo del 7%. La proporción de ingestas sanguíneas sobre el vertebrado sobreabundante fue menor para *Cx. quinquefasciatus* (0,67; n = 119), *Cx. pipiens molestus* (0,5; n = 18), y más alta para *Ae. crinifer* (1; n = 46), *Cx. eduardoi* (0,9; n = 10), *Isostomyia paranensis* (1; n = 20) y *Psorophora ferox* (1; n = 21). Los resultados obtenidos sugieren una fuerte influencia de la abundancia de los vertebrados en los patrones de alimentación de las especies de mosquitos estudiadas.

Finalmente, una comparación de la revisión bibliográfica de Sudamérica con los aportes originales desarrollados en esta tesis señala que el patrón de ingesta sanguínea de la mayoría de las especies estudiadas es consistente con lo observado en otras regiones. Los datos obtenidos en esta tesis complementan la información previa sobre los patrones de alimentación para algunas especies, o

Resumen

incluso representa los primeros datos registrados hasta la fecha mediante herramientas moleculares. Los resultados de esta investigación proporcionan información novedosa y valiosa sobre la intrincada dinámica entre mosquitos y hospedadores vertebrados en ambientes urbanos y rurales de la Provincia de Buenos Aires. Además, dado que nuevas enfermedades vectoriales emergen constantemente, contar con información de base sobre los patrones de ingesta sanguínea de las especies de mosquitos presentes en la región puede resultar de futura utilidad. La investigación continua en este campo es necesaria para gestionar eficazmente los riesgos que plantean las enfermedades transmitidas por mosquitos.

Palabras clave: Culicidae, mosquitos, enfermedades vectoriales, hospedador vertebrado, ingesta de sangre, patrones de alimentación de mosquitos, usos del suelo, Argentina, Sudamérica.

ABSTRACT

Culicid blood meals play a crucial role in the transmission cycles of pathogens, serving as the primary route of transmission among vertebrates. Understanding the feeding patterns of culicids is essential for assessing their potential as disease vectors, especially in urban and rural environments where they coexist with humans, domestic animals, and wildlife. In Buenos Aires Province, where the circulation of mosquito-borne viruses and nematodes has been documented, information on the blood-feeding patterns of most species remains limited. This data gap is the main motivation for this thesis, which aims to characterize the blood-feeding patterns of mosquitoes in urban and rural land uses of the province.

Initially, a comprehensive review and analysis of the available information on the blood-feeding patterns of mosquitoes in South America was conducted (Chapter II). This initial work established a baseline of knowledge and identified gaps requiring further attention. A total of 172 scientific studies were recorded, employing various methodological approaches, ranging from baited traps to the analyses of blood meals from mosquitoes collected in the field using serological and molecular techniques. The species most frequently studied were those implicated in malaria transmission, while other relevant vectors, such as *Aedes aegypti* are underrepresented in studies across the continent. The majority of these studies were conducted in Brazil, followed by Colombia and Perú. For over 70% of the species and three out of 13 South American countries, there is no information on the blood-feeding patterns of mosquitoes. Of the 73 mosquito species assessed by both methods (baited traps and analyses of blood meals), only 17 yielded similar results. For the remaining species, each method provided additional host species to the overall host list. The analysis underscores that blood-feeding patterns vary considerably among mosquito species and depending on the methodological approach used.

Subsequently, two approaches were designed to characterize the feeding patterns at two spatial scales. In the first approach (Chapter III), blood-feeding patterns were analyzed within the urban environment, focusing on green and domestic areas of the Área Metropolitana de Buenos Aires (AMBA) and Tandil, localities with different population sizes. Although vertebrate availability was not directly estimated, it can be inferred a priori that it varies among areas and localities. For the second approach (Chapter IV), an alternative proposal was designed to overcome the limitations associated with estimating vertebrate abundance in field studies, i.e., fixing the abundance of a vertebrate consistently across space and time. To achieve this, feeding patterns were evaluated in five settings with an overabundance of a specific vertebrate species (geriatric hospitals, cattle fields, dog boarding facilities, rabbit farm and chicken farms). During the development of the thesis, active

captures of resting adult mosquitoes were conducted using battery-powered handheld aspirators and manual aspirators. Taxonomic identification of the specimens was performed using dichotomous keys and specific descriptions, except for members of the *Cx. pipiens* complex, which were identified using molecular techniques, as well as the identification blood meals. For data analysis, multivariate methods were employed, and mosquito-host interaction networks were constructed.

Regarding the first approach, a total of 103 blood meals from *Aedes* (2 species) and *Culex* (7 species) were identified. Among these, 5 mammal and 18 bird species were recognized as hosts. *Aedes* mosquitoes exclusively fed on mammals, while *Culex* mosquitoes exhibited a broader host range including both birds and mammals. In AMBA, green areas supported more mosquito species than domestic areas, while both presented similar numbers of vertebrate species identified in the blood meals. In contrast, in Tandil, domestic areas had more species of both mosquitoes and hosts, including mammals and birds, compared to green areas. In the latter, only blood-fed *Aedes albifasciatus* were collected. For green areas of AMBA and domestic areas of Tandil, results suggested some degree of host selection.

In the second approach, 242 blood meals from *Aedes* (3 species), *Culex* (4), *Isostomyia* (1) and *Psorophora* (1) were identified. Among hosts, 5 mammals and 12 avian species were recognized. Overall, 79% of the blood meals were taken from the overabundant vertebrate, with proportions ranging from 67% to 99% in all settings except for geriatric hospitals (7%). The proportion of feeds taken on the overabundant vertebrate was lowest for *Culex quinquefasciatus* (0.67; n = 119) and *Cx. pipiens molestus* (0.5; n = 18), and highest for *Ae. crinifer* (1; n = 46), *Cx. eduardoi* (0.9; n = 10), *Isostomyia paranensis* (1; n = 20) and *Psorophora ferox* (1; n = 21). The results obtained suggest a strong influence of vertebrate abundance on the feeding patterns of the studied mosquito species.

Finally, a comparison of the literature review of South America and the original contributions of this thesis indicates that the blood-feeding patterns of most studied species are consistent with the observed in other regions. The information obtained in this thesis complements existing knowledge about feeding patterns for some species, or even represents the first recorded data to date using molecular tools. The results of this research provide novel and valuable insights into the intricate dynamics between mosquitoes and vertebrate hosts in urban and rural environments of Buenos Aires Province. Furthermore, as new vector-borne diseases constantly emerge, having baseline information on the blood-feeding patterns of mosquito species present in the region could prove invaluable in the future. Ongoing research in this field is essential for effectively managing the risks posed by mosquito-borne diseases.

Abstract

Keywords: Culicidae, mosquitoes, vector-borne diseases, vertebrate host, blood meal, mosquito feeding patterns, land uses, Argentina, South America.

ESQUEMA DE LA TESIS

Guía para leer esta tesis

Sírvase, un café... un mate... un café...

Seis años después de haber dejado mi hogar en Colombia e iniciar en otro país las actividades de campo y laboratorio que dieron forma a mi tesis doctoral, reflexionaba sobre aquellas preguntas iniciales ¿A quiénes pican los mosquitos? ¿Todas o la mayoría de las especies se alimentan de lo mismo? ¿Tienen patrones específicos según la especie? Con el tiempo, las preguntas se multiplicaron más rápido que sus respuestas. Formalizarlas e intentar responderlas antes de que surgieran nuevas fue uno de los mayores retos de esta tesis. El corazón de este trabajo gira en torno al análisis de los patrones de ingesta sanguínea de culícidos en usos del suelo urbanos y rurales de la Provincia de Buenos Aires.

La tesis está organizada en cinco capítulos.

En el **Capítulo I** se describen las generalidades de los mosquitos y se abordan los conceptos fundamentales sobre la ingesta sanguínea, destacando su relación con la transmisión de patógenos. Se presentan a las hembras de los mosquitos, los hospedadores vertebrados y los usos del suelo urbanos y rurales como elementos clave del estudio. Se plantean los objetivos y las hipótesis que orientaron la investigación.

El **Capítulo II** nació del impedimento de circular en espacios públicos y acceder al laboratorio producto de la pandemia de COVID-19. Esta situación, motivó la realización de una exhaustiva revisión bibliográfica sobre los patrones de alimentación de mosquitos en Sudamérica. Esta revisión no solo permitió establecer una base sólida de conocimiento para avanzar en el desarrollo de la tesis, sino que también a partir del análisis detallado de la información se obtuvieron resultados relevantes para dar lugar a este capítulo.

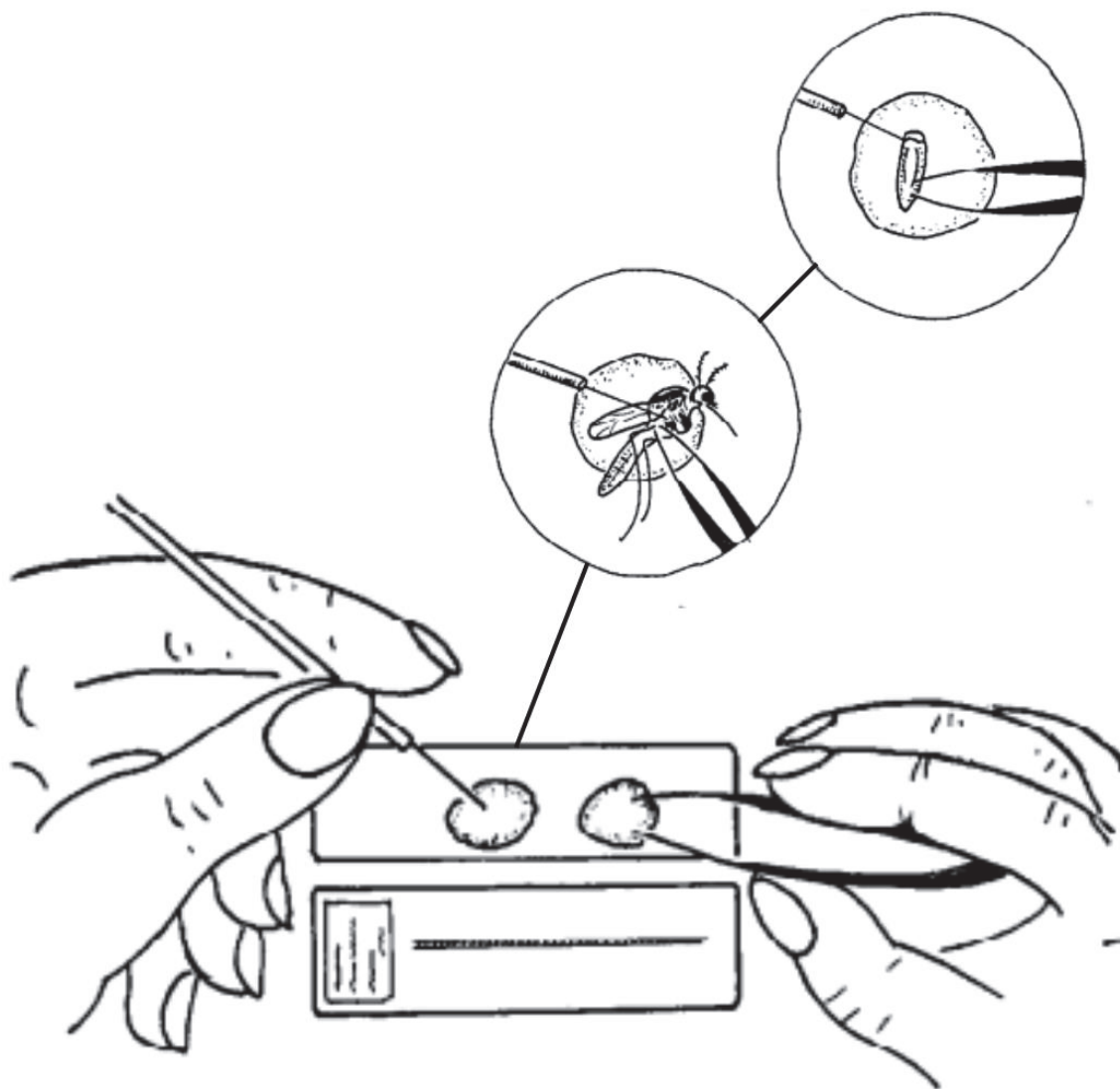
En los dos capítulos siguientes se presentan los trabajos realizados en campo, en orden cronológico.

El **Capítulo III** compara los patrones de ingesta sanguínea de mosquitos entre dos usos del suelo urbano, doméstico y áreas verdes, en dos localidades de distinto tamaño poblacional. El **Capítulo IV**

hace referencia al estudio de patrones de ingesta sanguínea en entornos con sobreabundancia de un vertebrado. Ambos incluyen una descripción detallada del área de estudio, los métodos de colecta, el trabajo de laboratorio y el análisis de datos, así como de los resultados obtenidos.

Cada uno de los 3 capítulos anteriores tienen una breve discusión específica y, finalmente, el **Capítulo V** integra los resultados obtenidos a lo largo del estudio en las consideraciones finales y las conclusiones.

**PATRONES DE INGESTA SANGUÍNEA DE
CULÍCIDOS (DIPTERA) EN
USOS DEL SUELO URBANOS Y RURALES DE LA
PROVINCIA DE BUENOS AIRES**



Modificado de Meadows (1968)

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

En este primer capítulo se describen las generalidades de los culicidos, comúnmente conocidos como mosquitos. Se desarrollan los conceptos fundamentales que han orientado la investigación y que permitirán al lector comprender las razones por las cuales los mosquitos se alimentan de sangre, sus patrones de ingesta sanguínea, y qué significa este comportamiento en los ciclos de transmisión de enfermedades vectoriales. Las hembras de mosquitos, los hospedadores vertebrados y el ambiente, con referencia en los usos del suelo urbano y rural, representan los elementos clave de esta investigación.

1.1 LOS CULÍCIDOS

1.1.1 Generalidades

Los mosquitos son insectos del orden Diptera, suborden Nematóceras y pertenecen a la familia Culicidae la cual incluye 3.725 especies descritas, y probablemente más de 1.000 aún por describir (Harbach 2024). La familia Culicidae es una de las más estudiadas entre los insectos debido a su importancia médica y veterinaria. La mayoría de las especies son hematófagas y muchas de ellas son vectores de enfermedades que causan alta morbilidad y mortalidad a nivel mundial (Service 1995). Sin embargo, los mosquitos también desempeñan un eslabón esencial en las redes tróficas, son un componente significativo de la fauna acuática y algunos son polinizadores de plantas (Rueda 2008, Barredo & DeGennaro 2020).

Los culícidos tienen distribución cosmopolita, es decir, se los encuentra en casi todas las regiones del mundo excepto la Antártida y algunas islas, desde el nivel del mar hasta elevaciones más allá de los 3.500 m.s.n.m. (Eldridge 2005). No obstante, se observa una mayor diversidad de mosquitos en los trópicos y subtrópicos, donde el clima cálido y húmedo es favorable para el desarrollo rápido de los estados inmaduros y las grandes abundancias poblacionales de estos insectos. Además, la diversidad de hábitats en estas regiones permitió la evolución de muchas especies (Clements 1992). Dentro de la familia se reconocen dos subfamilias (Anophelinae y Culicinae) y 113 géneros. La subfamilia Anophelinae está formada por tres géneros y Culicinae por 110 géneros divididos en once tribus (Harbach 2024). En Argentina, la fauna de mosquitos representa el 7% de la del mundo y casi el 30% de las 832 especies reportadas en Sudamérica (WRBU 2021). En el país se han registrado 247 especies de Culicidae (Rossi 2015, Stein et al. 2018, Villarroel et al. 2024). La subfamilia Anophelinae está representada por 36 especies agrupadas en dos géneros, *Anopheles* y *Chagasia*. La subfamilia Culicinae engloba 211 especies distribuidas en 19 géneros; i.e., *Aedeomyia*, *Aedes*, *Coquillettidia*, *Culex*, *Haemagogus*, *Isostomyia*, *Limatus*, *Lutzia*, *Mansonia*, *Onirion*, *Orthopodomyia*, *Psorophora*, *Runchomyia*, *Sabethes*, *Shannoniana*, *Toxorhynchites*, *Trichoprosopon*, *Uranotaenia*, y *Wyeomyia*. En la provincia de Buenos Aires hay 75 especies distribuidas en 13 de los 21 géneros registrados en nuestro país, *Aedeomyia* (1 especie), *Aedes* (7), *Anopheles* (10), *Coquillettidia* (4), *Culex* (27), *Isostomyia* (1), *Limatus* (1), *Mansonia* (5), *Psorophora* (12), *Sabethes* (1), *Toxorhynchites* (1), *Uranotaenia* (4), *Wyeomyia* (1) (Rossi 2015). Entre estas especies se encuentran reconocidos vectores de patógenos como *Aedes aegypti*, *Aedes albifasciatus* y los miembros del complejo *Culex pipiens*.

1.1.2 Ciclo de vida

Los culicidos son holometábolos, es decir, experimentan metamorfosis completa. Su ciclo de vida se compone de cuatro estados: huevo, larva (4 estadios: L1-L4), pupa y adulto (Figura 1.1). Los huevos pueden ser colocados en el agua o en un sustrato próximo, las larvas y pupas transcurren en ambientes acuáticos, mientras que el estado adulto se desarrolla en entornos terrestres (Clements 1992).

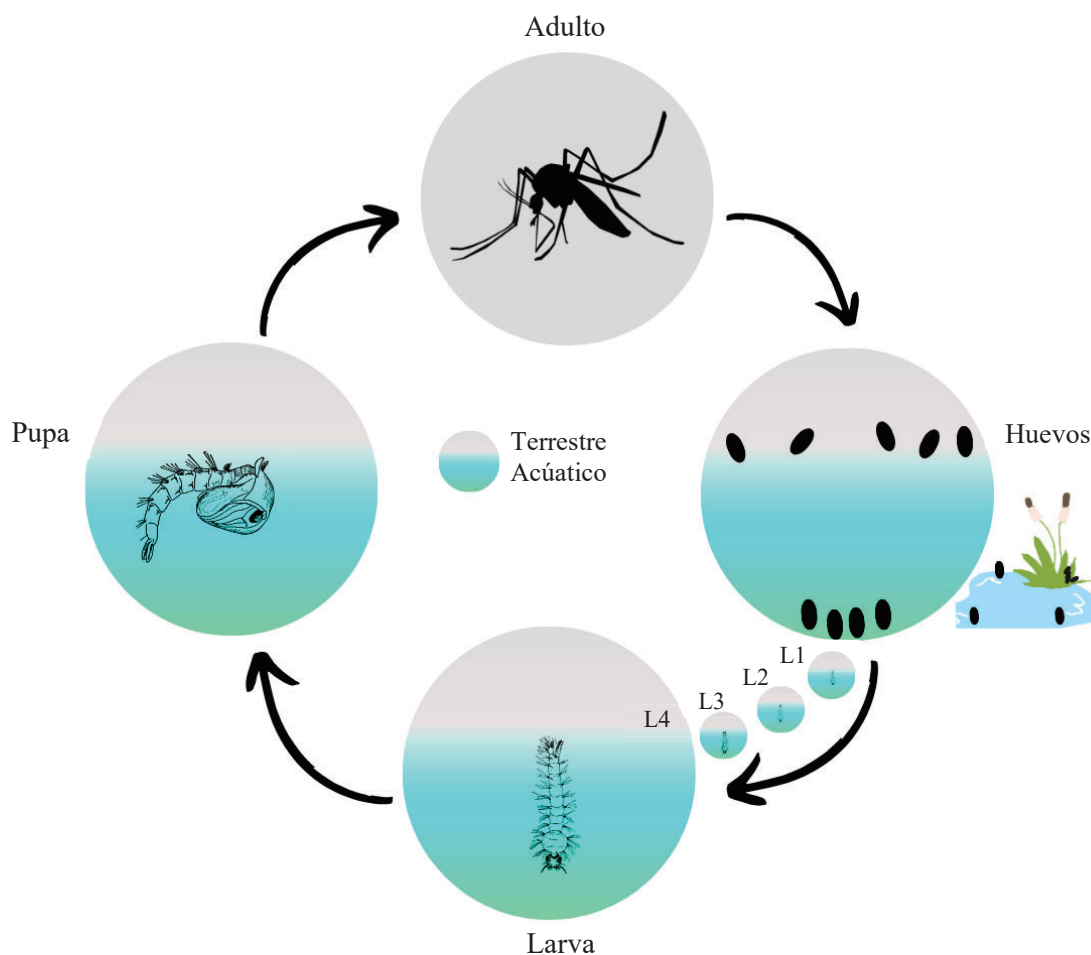


Figura 1.1 Ciclo de vida de los culicidos.

En la mayoría de los culicidos, el apareamiento comienza con el macho y la hembra en vuelo, y puede finalizar mientras la pareja permanece en vuelo o tras asentarse sobre la vegetación o el suelo. En general, la cópula se completa en cuestión de segundos. Sin embargo, en algunos géneros, como *Sabethes*, los machos en vuelo se acercan a las hembras en reposo, iniciando y completando la cópula en esa posición. En estos mosquitos, la cópula es más prolongada y puede durar minutos (Clements

1999). Las hembras ponen entre 50 y 500 o más huevos, según la especie, el estado fisiológico y las condiciones ambientales, y pueden depositarlos directamente sobre la superficie del agua (ya sea como huevos individuales o en forma de balsa), debajo de la superficie del agua adheridos a la vegetación o bien en superficies con altas probabilidades de inundarse (Bentley & Day 1989, Silver 2008). Estas estrategias de oviposición varían según el género (Figura 1.2). Los huevos depositados sobre o debajo de la superficie del agua eclosionan rápidamente, mientras que los huevos colocados en superficies húmedas o secas no eclosionan hasta entrar en contacto con el agua, lo cual puede ocurrir meses o años después. Luego, el huevo eclosiona y emerge la larva de estadio I. A medida que avanza en su desarrollo, pasa por cuatro estadios hasta convertirse en pupa. Cada estadio implica un aumento de tamaño, ya que morfológicamente son muy parecidos entre sí. La pupa, o preimago, es la última etapa de la fase acuática, su función es la transformación de larva a adulto (Clements 1992). El ciclo completo de huevo a adulto, en condiciones óptimas de temperatura y alimentación, ocurre aproximadamente entre una y tres semanas. Sin embargo, en función de la especie, algunos mosquitos tienen la capacidad de permanecer en fase de latencia (quiescencia o diapausa) en algún estado del ciclo de vida durante varios meses (Clements 1992).

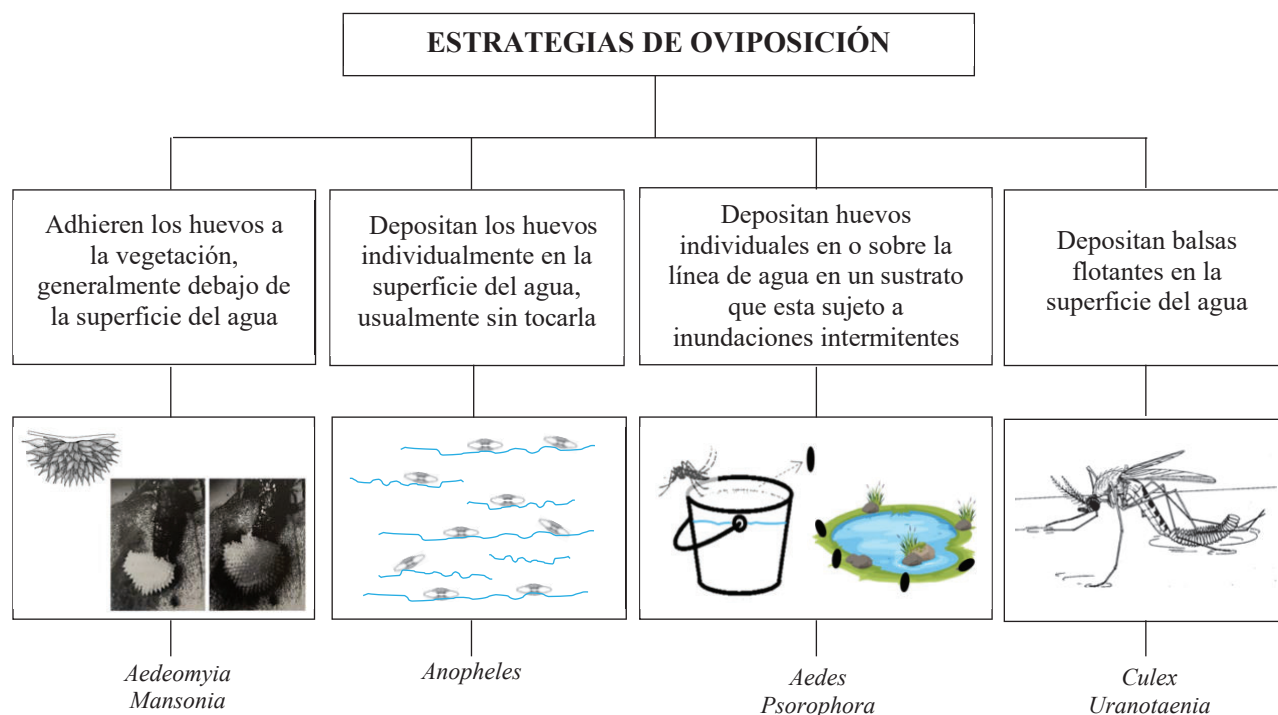


Figura 1.2 Estrategias de oviposición según algunos géneros de culícidos.

Las larvas de mosquitos obtienen el alimento mediante diversos métodos, incluyendo filtración, recolección, raspado, trituración y predación (Figura 1.3). Salvo estos últimos, las larvas se alimentan de materia particulada, que incluye una variedad de microorganismos como bacterias y algas, además de biopelículas y materia orgánica, como detritos vegetales en descomposición y pequeños macroinvertebrados muertos, presentes en una variedad de hábitats acuáticos. Las larvas de mosquitos predadores son capaces de capturar, engullir y matar insectos relativamente grandes, a menudo del mismo tamaño que ellas. Por ejemplo, las larvas de *Toxorhynchites* atacan con mayor frecuencia mientras permanecen inmóviles, aguardando a que la presa se acerque para capturarla. En otros casos, las larvas de algunas especies de *Limatus*, *Wyeomyia* y *Thichoprosopon* parten a sus presas en dos, y se cree que posteriormente succionan sus fluidos corporales (Clements 1992). La mayoría de las larvas de culícidos emplean al menos dos métodos de alimentación, aunque pueden utilizar uno predominantemente. Dentro de cada hábitat, los recursos alimentarios se encuentran distribuidos en diferentes sitios. La mayoría de las larvas de mosquitos son omnívoras, lo que les aporta las proteínas, vitaminas y nucleótidos esenciales para su crecimiento, metabolismo y desarrollo. Por su parte, las pupas tienen una vida efímera y no se alimentan (Clements 1992).

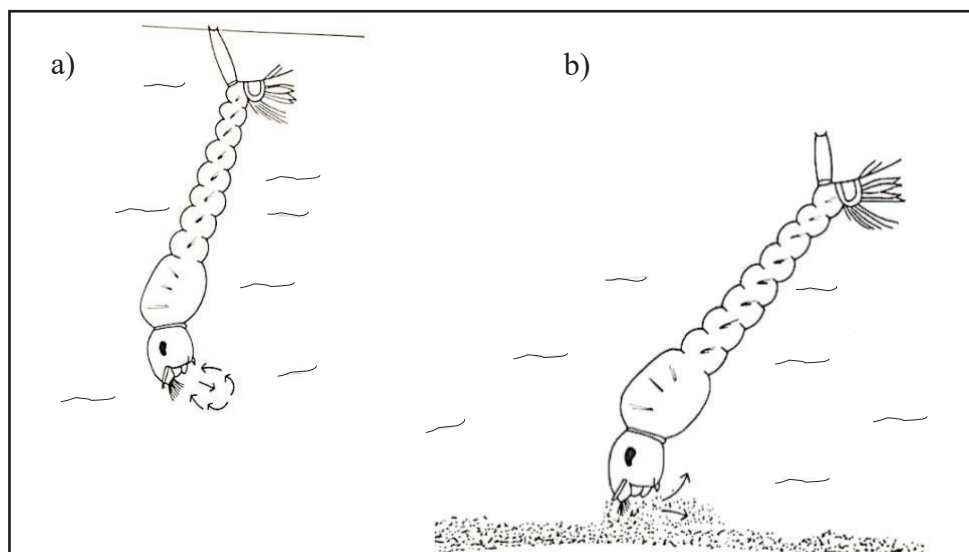


Figura 1.3 Larva exhibiendo dos métodos de alimentación a) filtración y b) recolección.

En los mosquitos adultos, la alimentación difiere entre machos y hembras, y esto será desarrollado en la siguiente sección.

1.1.3 Alimentación del estado adulto

Machos y hembras fitófagos

Los mosquitos de ambos sexos beben agua y se alimentan de fluidos azucarados de las plantas, incluido el néctar floral y extrafloral, jugos de frutos, exudados de tejidos vegetales dañados y azúcares de origen vegetal, como la melaza (Clements 1992, Peach et al. 2019). En general, la preferencia por ciertas especies de plantas varía según la especie de mosquito, el hábitat geográfico y la disponibilidad estacional. Los mosquitos pueden discriminar entre fuentes ricas y pobres de néctar para elegir plantas que ofrezcan un mayor contenido de glucógeno, lípidos y proteínas (Nyasembe & Briegel 2012). La búsqueda de néctar implica la integración de al menos tres sistemas sensoriales, el olfato, la vista y el gusto; sin embargo, los mecanismos moleculares de cómo se perciben estas señales, así como su contribución relativa en la detección de una fuente de néctar, son poco conocidos (Barredo & DeGennaro 2020).

Los machos son estrictamente fitófagos, es decir, dependen exclusivamente del néctar o de fuentes de azúcar alternativas de las plantas, lo que hace que su supervivencia, sus tasas de inseminación y el vuelo dependan en gran medida de la disponibilidad de azúcares, y si se les priva de azúcar, típicamente mueren dentro de los cuatro días posteriores a la eclosión (Gouagna et al. 2014). Además, al carecer de las reservas de energía necesarias para volar y copular, es poco probable que los machos alcancen el éxito reproductivo ya que depende del número de hembras que puedan inseminar antes de que se agote el semen (Gary et al. 2009). El estado nutricional de los machos puede tener un efecto indirecto en la frecuencia de picaduras de las hembras, ya que la dieta influye en el funcionamiento de las glándulas accesorias masculinas que segregan proteínas que se transfieren a las hembras durante el apareamiento y tienen un efecto sobre el comportamiento de búsqueda de hospedadores y la oviposición (Baldini et al. 2013). Por ejemplo, las hembras grávidas normalmente no buscan hospedadores; sin embargo, las hembras grávidas apareadas con machos privados de azúcar pueden seguir buscando hospedadores. Además, las hembras que se aparean con machos alimentados con azúcar presentan un mayor contenido de lípidos ováricos, menos reabsorción de folículos y una mayor longevidad (Baldini et al. 2013, Barredo & DeGennaro 2020).

Los azúcares de las plantas también sirven como fuente de energía para las hembras de mosquitos durante los primeros días después de la emergencia, período en el cual los folículos ováricos primarios de la hembra se desarrollan hasta alcanzar la etapa de reposo pre-vitelogénica y se genera la capacidad de encontrar hospedadores (Clements 1999, Lourenço de Oliveira 2015). Aunque la alimentación con néctar no está directamente asociada a la transmisión de patógenos, puede afectar la ingesta de sangre

(ver más abajo). Por ejemplo, las hembras de *Anopheles gambiae* y *Ae. aegypti* que son privadas de azúcar pueden compensar esta deficiencia al ingerir más cantidad de sangre con mayor frecuencia, lo que les permite alcanzar su fitness y completar la maduración de los huevos. Cuando las hembras ingieren néctar, destinan reservas de carbohidratos y lípidos para actividades que demandan energía, como el vuelo. En ausencia de néctar, las hembras necesitan destinar lípidos derivados de la sangre para satisfacer los requisitos energéticos para el comportamiento de vuelo además de utilizar otros nutrientes para completar su ciclo reproductivo (Nyasembe & Briegel 2012). Aunque las hembras son menos susceptibles a la mortalidad rápida por privación de azúcar, su tasa de supervivencia y fecundidad pueden verse comprometidas por la reducción de las reservas energéticas. Aún no está claro si esto se traduce en mayores tasas de transmisión de patógenos (Foster 1995, Quintero-Gil et al. 2010, Cassone et al. 2024).

A diferencia de los hábitats naturales, en los ambientes urbanos tanto los machos como las hembras de mosquitos pueden acceder a fuentes adicionales de azúcar (Barredo & DeGennaro 2020). Por ejemplo, Dieng et al. (2017) compararon diferentes tipos de desechos alimenticios dulces como fuentes potenciales de azúcar, evaluando su efecto en la producción de huevos y la supervivencia de machos y hembras de *Ae. aegypti*. Los resultados indicaron que los productos de panadería y los postres, incrementan tanto la tasa de supervivencia como la producción de huevos.

La evolución de la hematofagia

Se cree que la hematofagia surgió entre los artrópodos de los períodos Jurásico y Cretácico (hace 145–65 millones de años). Hasta ahora, la discusión sobre la evolución del comportamiento de ingerir sangre es especulativa, basada en gran medida en observaciones de la diversidad de formas y estilos de vida de los insectos actuales y, en algunos casos, en los detalles de sus relaciones con los vertebrados (Balashov 1984, Ribeiro 1995). Existen tres hipótesis principales sobre la probable trayectoria evolutiva. La primera sugiere que los insectos fitófagos accidentalmente “mordieron” a los vertebrados y luego desarrollaron una fisiología digestiva que les permitió la absorción metabólica y el uso de nutrientes ricos en proteínas (Mattingley 1965, Takken & Verhulst 2013).

La segunda hipótesis supone una larga asociación entre vertebrados e insectos sin especializaciones que los adaptaran inmediatamente al estilo de vida hematófago. Más bien, los insectos se sentían atraídos al nido o madriguera del hospedador vertebrado por diferentes razones que podían haber sido favorables para su supervivencia (e.g. refugio, alimento, apareamiento). Los insectos atraídos por el nido también habrían encontrado caídas cantidades considerables de piel, pelo y plumas. La ingestión

regular y accidental de esta cubierta corporal desprendida probablemente llevó a los insectos a utilizar eficientemente este material mediante adaptaciones conductuales, fisiológicas y morfológicas (Lehane 2005, Lymo & Ferguson 2009). Durante este proceso, el insecto pasó a depender de señales específicas del hospedador que le permiten identificarlo con precisión en un entorno heterogéneo. Por lo tanto, la preferencia por el hospedador se considera un rasgo adaptativo (Lyimo & Ferguson 2009).

Finalmente, la tercera hipótesis sugiere que la alimentación sanguínea se desarrolló en algunos linajes ancestrales de insectos que estaban morfológicamente preadaptados para perforar superficies, como en el caso de los insectos entomófagos (por ejemplo, Diptera: Rhagionidae). Esos insectos depredadores han sido atraídos por nidos, madrigueras, la acumulación de insectos alrededor de vertebrados y la presencia de vertebrados en áreas húmedas (sitios de cría de muchos dípteros), por lo que pueden haber estado en contacto repetido y posiblemente prolongado con anfibios, reptiles o mamíferos. Los insectos entomófagos tendrían adaptaciones fisiológicas y morfológicas, como enzimas digestivas eficientes y piezas bucales penetrantes, que facilitarían la transición a la hematofagia (Beklemishev 1957, Waage 1979, Lehane 2005).

En cualquier caso, el inicio de la hematofagia se considera un evento casual o accidental que, a través de una asociación estrecha y continua con hospedadores vertebrados, condujo a la hematofagia completa. Así, la ingesta de sangre representa un desafío evolutivo que requirió meticulosas adaptaciones específicas para diversos grupos de hospedadores, permitiendo la transmisión efectiva de patógenos entre hospedadores vertebrados. Aunque la interacción “mosquito-hospedador” es la razón principal detrás del intenso estudio de los mosquitos, el origen de la alimentación sanguínea y la evolución de los patrones de uso de hospedadores por mosquitos u otros dípteros vectores de patógenos sigue siendo poco conocido (Reeves et al. 2018a).

¿Por qué alimentarse de sangre?

La hematofagia es característica de las hembras de mosquitos de la mayoría de los géneros. La relevancia de la ingesta de sangre obtenida de los hospedadores radica en que proporciona una fuente crucial de proteínas, lípidos, micronutrientes y aminoácidos necesarios para satisfacer los requisitos mínimos de nutrientes para la producción y maduración de los huevos (Clements 1992). Cabe resaltar que, estos nutrientes no pueden obtenerse adecuadamente de fuentes de alimentos ricos en carbohidratos como el néctar (Pitts 2014). Las especies cuyas hembras requieren sangre para el desarrollo de los huevos se denominan “anautógenas” (Figura 1.4a). En contraste, las especies capaces de producir una o más puestas de huevos sin sangre se denominan “autógenas”. La autogenia

puede ser facultativa u obligatoria y es posible cuando las hembras emergen con suficientes nutrientes para desarrollar completamente los huevos. En la autogenia facultativa, las hembras pueden producir huevos sin alimentarse de sangre en su primera oviposición; sin embargo, para las puestas siguientes, deben ingerir sangre (Figura 1.4b). Esto ocurre en *Aedes taeniorhynchus* y *Culex pipiens molestus* y en algunas especies de los géneros *Anopheles*, *Uranotaenia* y *Coquillettia* (O'meara & Evans 1977, Reeves et al. 2018a). En la autogenia obligatoria, las hembras se alimentan exclusivamente de azúcares derivados de plantas. Por ejemplo, las especies de los géneros *Toxorhynchites* y *Malaya* tienen los estiletes del aparato bucal atrofiados, lo que les impide ingerir sangre (Figura 1.4c) (Service 1993, Reeves et al. 2018a).

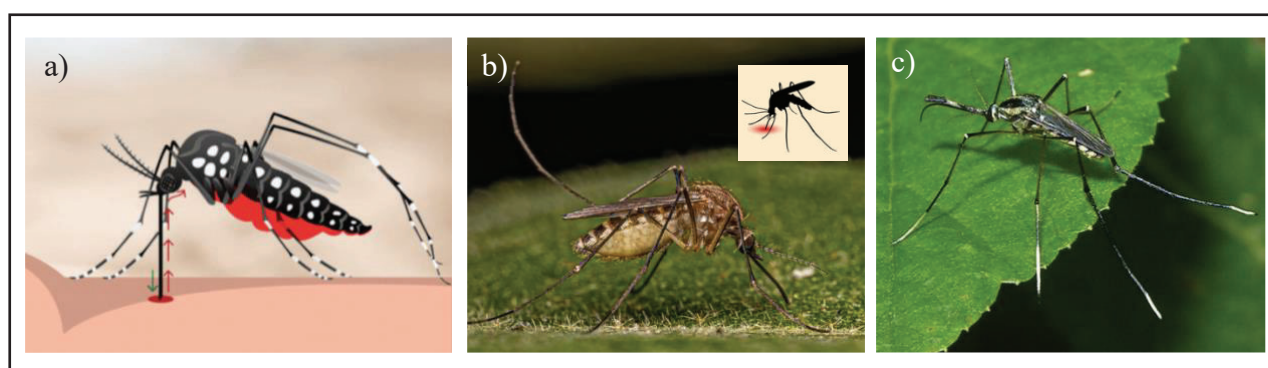


Figura 1.4 Estrategias reproductivas de las hembras de culícidos a) anautogenia = hematofagia, b) autogenia facultativa y c) autogenia obligatoria.

Si bien la ingesta sanguínea se utiliza principalmente para desarrollar los huevos, la sangre puede complementar la nutrición de la hembra, utilizarse o excretarse de forma incompleta, o consumirse para mantener los huevos desarrollados (Briegel 1985, Mitchell & Briegel 1989). Durante el ciclo gonotrófico, periodo que transcurre desde la búsqueda de hospedador para ingerir sangre hasta la oviposición, las hembras de los mosquitos ingieren y digieren sangre, recuperan nutrientes y excretan productos de desecho para producir huevos viables (Clements 1992). En cada picadura, una hembra ingiere aproximadamente 30 μL de sangre, de los cuales alrededor del 10% del carbono del aminoácido proteico va a los huevos ($\approx 4\%$ en forma de proteínas y 6% como lípidos), el 20% se retiene en la hembra (10% proteínas, 8% lípidos, 2% azúcares), y la mayoría se oxida y se excreta como desecho (Scaraffia 2016). De acuerdo a los periodos de actividad hematofágica, las hembras pueden ser diurnas (e.g. *Aedes* y *Psorophora*) o bien crepusculares y nocturnas (*Culex* y *Anopheles*) (Forattini 2002, Stein et al. 2013). En algunas especies del subgénero *Ochlerotatus* de *Aedes*, si bien

existe actividad durante las horas del día, la mayor intensidad se produce durante las horas del crepúsculo (Visintin 2012).

Las hembras de mosquito se alimentan de todos los linajes de vertebrados, es decir, mamíferos, aves, reptiles, anfibios y peces (Tempelis 1975, Tamashiro et al. 2011, Takken & Verhulst 2013, Miyake et al. 2019). Hallazgos recientes indican que algunas especies de mosquitos también se alimentan de invertebrados, como es el caso de *Uranotaenia sapphirina* que se alimenta de anélidos (Reeves et al. 2018a).

1.2 EPIDEMIOLOGÍA E IMPORTANCIA EN SALUD PÚBLICA Y VETERINARIA

1.2.1 Mosquitos vectores de patógenos.

Los mosquitos fueron los primeros artrópodos científicamente incriminados en la transmisión de patógenos vertebrados a fines del siglo XIX (Woodbridge & Walker 2002). La primera evidencia sólida de que un parásito en humano experimentaba un desarrollo obligatorio en un insecto se obtuvo en China en 1877 (reportado en 1878) por el escocés Patrick Manson. Este médico, descubrió que los estadios larvales del nematodo *Wuchereria bancrofti* se desarrollaban en el cuerpo del mosquito *Culex quinquefasciatus* y adquirían el parásito a través de la alimentación de humanos infectados (Clements 1999). Más tarde, entre 1897 y 1898, en la India, Ronald Ross realizó estudios sobre la transmisión de la malaria o paludismo y la malaria aviar. Durante sus investigaciones, registró el ciclo de vida del organismo causal de la malaria aviar y estableció el ciclo "ave-mosquito-ave" en la transmisión de la enfermedad (Clements 1999). En 1881, el cubano Carlos Finlay propuso a *Ae. aegypti* como vector en la transmisión del patógeno de la fiebre amarilla. No obstante, los esfuerzos por demostrar la transmisión del virus a través de la picadura de mosquitos infectados fracasaron debido a que no se proporcionó el tiempo suficiente para que el agente infeccioso se replicara en los mosquitos. En 1900, una comisión liderada por Walter Reed en Cuba, logró por primera vez la transmisión del patógeno de la fiebre amarilla de una persona infectada a otra no infectada (Clements 1992, Lehane 2005). Estos fueron los trabajos pioneros, a partir de los cuales se profundizó el estudio de los mosquitos y su relación con la transmisión de patógenos.

La importancia sanitaria de los mosquitos sobrepasa la de cualquier otro grupo de insectos por la prevalencia de las enfermedades cuyos agentes etiológicos transmiten a las personas y los animales. Del total de especies conocidas, un porcentaje bajo corresponde a vectores, es decir, tienen un rol como transmisores de patógenos en forma potencial o efectiva, o son sospechosos de dicha

transmisión. Los vectores pueden infectarse a través de distintos mecanismos. El más frecuente es al ingerir sangre de un hospedador infectado (transmisión horizontal). Luego, por vía materna cuando el patógeno es transmitido a los huevos, ya sea por la infección de las células del tejido ovárico o por la contaminación de los huevos durante la oviposición (transmisión vertical), y finalmente mediante la cópula (transmisión venérea). Esta última vía de transmisión ha sido escasamente estudiada, aunque se ha documentado para los virus La Crosse en *Aedes triseriatus* (Thompson & Beaty 1977, Higgs & Beaty 2005) y Zika en *Ae. aegypti* (Pereira-Silva et al. 2017). Las bajas tasas de transmisión vertical de patógenos y la alta mortalidad de mosquitos inmaduros, sugieren que las hembras se infectan principalmente al ingerir sangre de un hospedador infectado. Comúnmente, los patógenos provocan nulos o escasos efectos negativos en los vectores, mientras que la infección en los hospedadores vertebrados puede resultar en alta morbilidad o mortalidad (Higgs & Beaty 2005).

Los patógenos que los mosquitos pueden transmitir se circunscriben en tres grupos: virus (e.g. fiebre amarilla, dengue, Nilo Occidental, encefalitis de Saint Louis), protozoos (e.g. *Plasmodium*) y nematodos (e.g. *Wuchereria*) (Service 1993). Se estima que sus picaduras transmiten agentes patógenos a millones de personas cada año, lo que provoca más de 700.000 muertes en todo el mundo (OMS 2024a). La emergencia, dispersión y mantenimiento de estos patógenos depende de la convergencia en espacio y tiempo del hospedador, el vector y el patógeno, y la interacción entre los dos primeros es esencial para la adquisición del patógeno por parte del vector y su posterior transmisión a otro hospedador (Molaei et al. 2008). Esto ocurre durante la ingesta de sangre, en la que la hembra de mosquito puede adquirir un patógeno junto con la sangre infectada de un hospedador. Una vez en el intestino del mosquito, los virus y protozoos infectan el epitelio intestinal, replicándose en las células epiteliales. Luego, deben superar una serie de barreras físicas y fisiológicas en el mosquito, y dirigirse por medio de la hemolinfa a las glándulas salivales, donde se replican y acumulan. De este modo, el mosquito se vuelve capaz de transmitir el patógeno a un hospedador susceptible durante una picadura posterior mientras inyecta anticoagulantes y anestésicos (Nouzova et al. 2019).

En términos generales, la picadura y la ingesta de sangre son dos procesos distintos que ocurren secuencialmente durante el contacto mosquito-hospedador (Figura 1.5a; Walker & Edman 1985). Durante el proceso de picadura, un mosquito utiliza su fascículo para penetrar la piel del hospedador mientras busca vasos sanguíneos. Mientras pica, libera saliva que contiene anticoagulantes y anestésicos (Ribeiro 1987). El proceso de alimentación sanguínea sigue una vez que se encuentra un vaso sanguíneo y la sangre es succionada a través del estilete del mosquito (Friend & Smith 1977). Dado que ingerir sangre no es lo mismo que picar, la tasa de alimentación sanguínea del mosquito

(cantidad de ingesta de sangre por mosquito por unidad de tiempo) puede diferir de su tasa de picaduras (cantidad de picaduras, con o sin ingesta de sangre, por mosquito por unidad de tiempo). Es pertinente diferenciar entre la picadura y la ingesta de sangre, ya que durante el contacto (mosquito-hospedador) son posibles dos direcciones de transmisión de patógenos. En la primera dirección, cuando un mosquito infectado pica a un hospedador susceptible, puede transmitirle el patógeno presente en su saliva (Figura 1.5b; Chamberlain & Sudia 1961). La ingesta de sangre, un proceso que ocurre después de liberar la saliva, no es necesaria para que se produzca una transmisión exitosa del patógeno en esta situación. En la segunda dirección, un mosquito se infecta después de ingerir sangre de un hospedador infectado (Figura 1.5c). La sangre que contiene el patógeno debe ser transportada al intestino medio del mosquito antes de que el patógeno pueda replicarse. El tiempo comprendido entre la infección del vector y la transmisión del patógeno se denomina período de incubación extrínseco. Es importante resaltar que no todas las especies de mosquitos pueden transmitir biológicamente un patógeno; como se mencionó anteriormente, debido a la presencia de barreras físicas y biológicas en el vector, no todas las partículas infecciosas que ingresan en el mosquito alcanzan las glándulas salivales, por eso se requiere de un número mínimo de partículas infecciosas para que la infección sea efectiva (Contigiani et al. 2016). La capacidad del mosquito para replicar y transmitir un patógeno se conoce como competencia vectorial y está genéticamente determinada. Por otro lado, cuando se consideran aspectos biológicos, fisiológicos y comportamentales que influyen en la dinámica poblacional del vector nos referimos a la capacidad vectorial (Higgs & Beatty 2005, Contigiani et al. 2016).

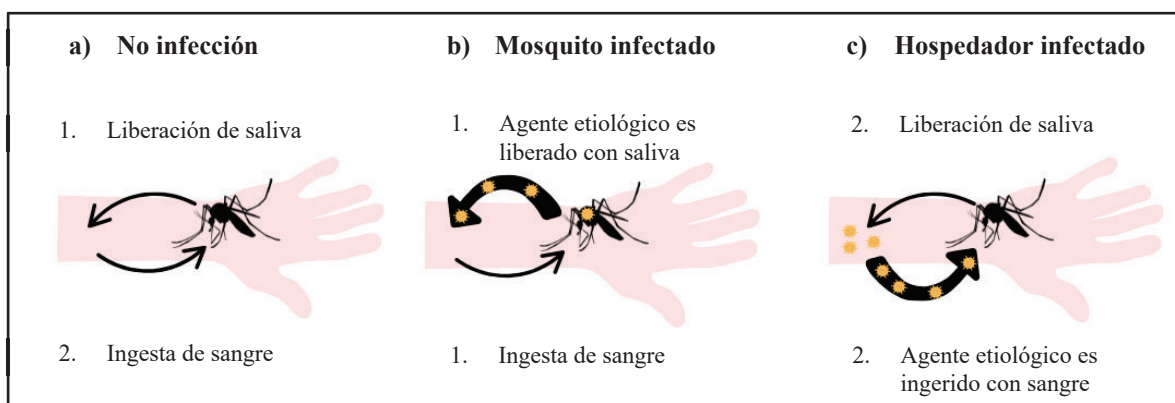


Figura 1.5 Durante el contacto mosquito-hospedador se producen dos procesos de forma secuencial: (a) 1. La picadura y la liberación de saliva y 2. la ingesta de sangre. Los dos procesos representan dos direcciones separadas y distintas de transmisión de patógenos. (b) Cuando el mosquito es infeccioso, el patógeno se transfiere al hospedador (e.g. humano) a través de su saliva. (c) Cuando el hospedador es infeccioso, el patógeno se transfiere al mosquito a través de la ingesta de sangre. Adaptado de Thongsripong et al. (2021).

A continuación, se presentan esquemáticamente dos ciclos de transmisión de los virus del dengue (DEN) y Nilo Occidental (NO), resaltando las interacciones entre vectores, hospedadores y patógenos. El virus del DEN se transmite a través de los mosquitos *Ae. aegypti* y *Aedes albopictus*, siendo el ser humano el hospedador amplificador, siguiendo un ciclo humano-mosquito-humano (Figura 1.6). En contraste, otros ciclos de transmisión se replican en un gran número de hospedadores como el virus del NO que infecta a más de 400 especies documentadas, incluidos humanos, aves, caballos, anfibios y reptiles (Root 2013, Saiz et al. 2021). El virus del NO se mantiene en la naturaleza a través de la transmisión entre aves y mosquitos del género *Culex*, quienes constituyen el ciclo de transmisión enzoótico. Sin embargo, algunas especies de mosquitos modifican sus patrones de alimentación, permitiendo el cambio de hospedador (mosquito-ave-mosquito y mosquito-mamífero/humano-mosquito) y aumentando la posibilidad de establecer ciclos epizoóticos (enfermedad en equinos) o epidémicos (enfermedad en humanos) (Kilpatrick et al. 2006a). Los mosquitos que son capaces de cambiar de hospedador se conocen como vectores puente, ya que pueden transmitir un patógeno determinado entre diferentes taxones (Figura 1.7).

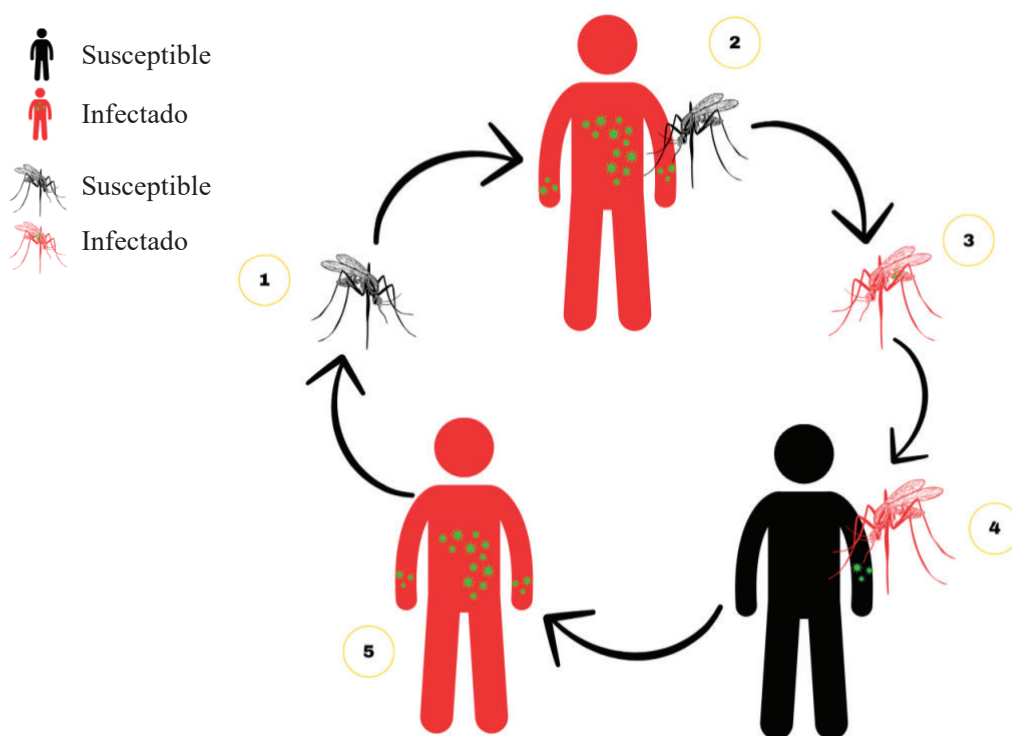


Figura 1.6 Ciclo de transmisión del virus del dengue. 1) Mosquito susceptible/no infectado, 2) Mosquito susceptible ingiere sangre de una persona infectada por el virus del dengue, 3) mosquito se infecta, 4) mosquito infectado pica a una persona susceptible y las infecta con el virus del dengue a través de su saliva, 5) persona infectada con el virus del dengue.

Independientemente del patógeno, los mosquitos pueden infectar a más de una especie de hospedador vertebrado, pero solo algunas de ellas desarrollan cargas patógenas suficientemente altas como para infectar a los vectores que se alimentan de ellas; a estos vertebrados se les denomina hospedadores amplificadores (Kuno & Chang 2005). Las demás especies infectadas, denominadas hospedadores accidentales o terminales, son irrelevantes en términos de propagación de la enfermedad, pero pueden ser de gran preocupación si se trata de seres humanos, animales domésticos o fauna silvestre protegida (Figura 1.7).

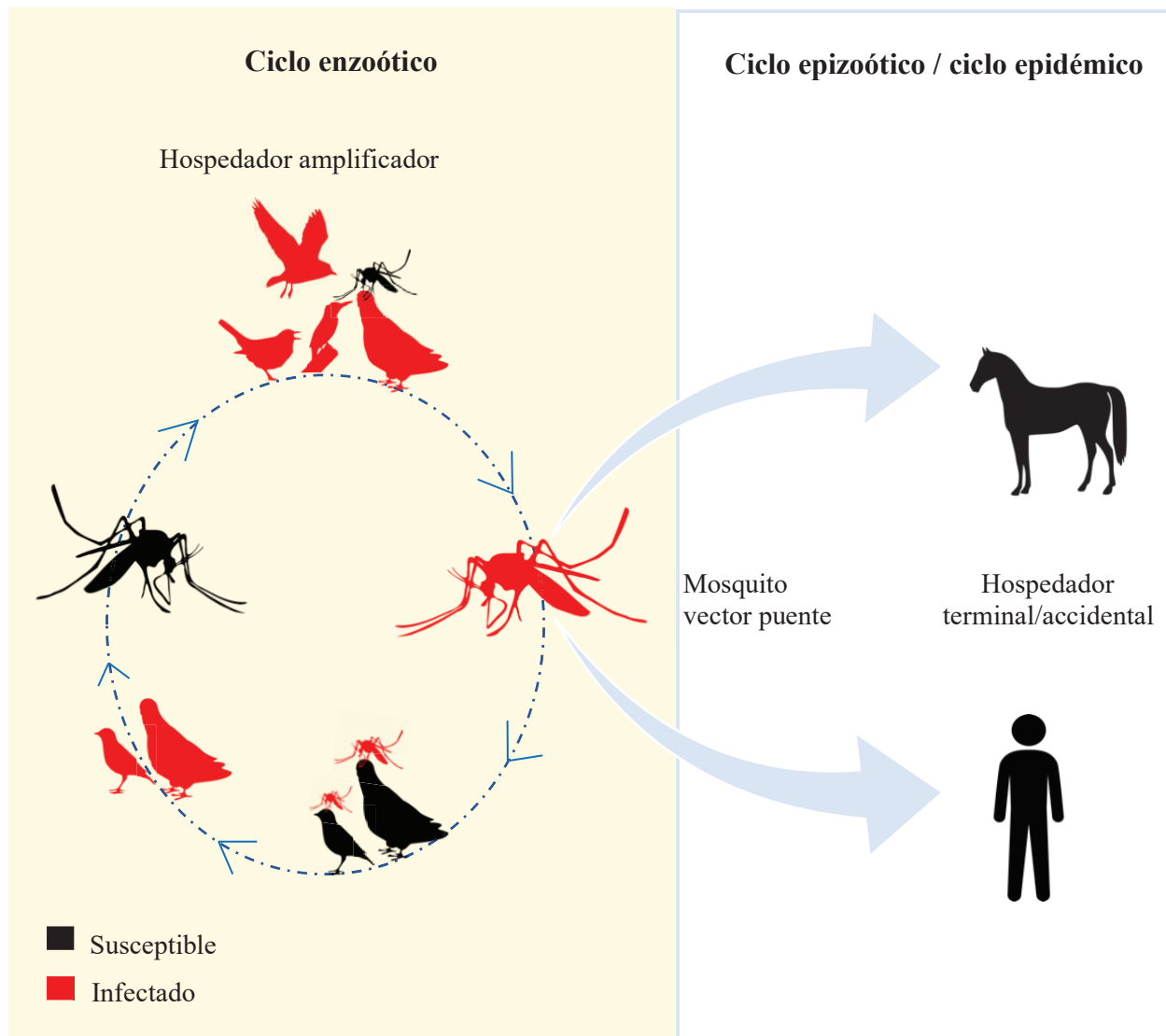


Figura 1.7 Ciclo de transmisión del virus del Nilo Occidental. El ciclo enzoótico o primario del virus involucra a mosquitos del género *Culex* y aves. El humano y caballo actúan como hospedadores terminales y/o accidentales, formando parte de los ciclos epidémicos y epizooticos, respectivamente.

En cuanto a los nematodos, varios géneros de mosquitos transmiten filarias, ingeridas junto con la sangre y que se desarrollan desde microfilarias (larva de primer estadio, L1) hasta la forma madura infectiva (L3) en diferentes partes del cuerpo del insecto dependiendo de la especie y luego migran a las piezas bucales del vector. La infección ocurre cuando el mosquito realiza una nueva ingesta de sangre y las L3 se depositan en la piel y penetran activamente en el hospedador a través de la herida de la picadura del mosquito (Figura 1.8) (Anderson 2000, CDC 2019).

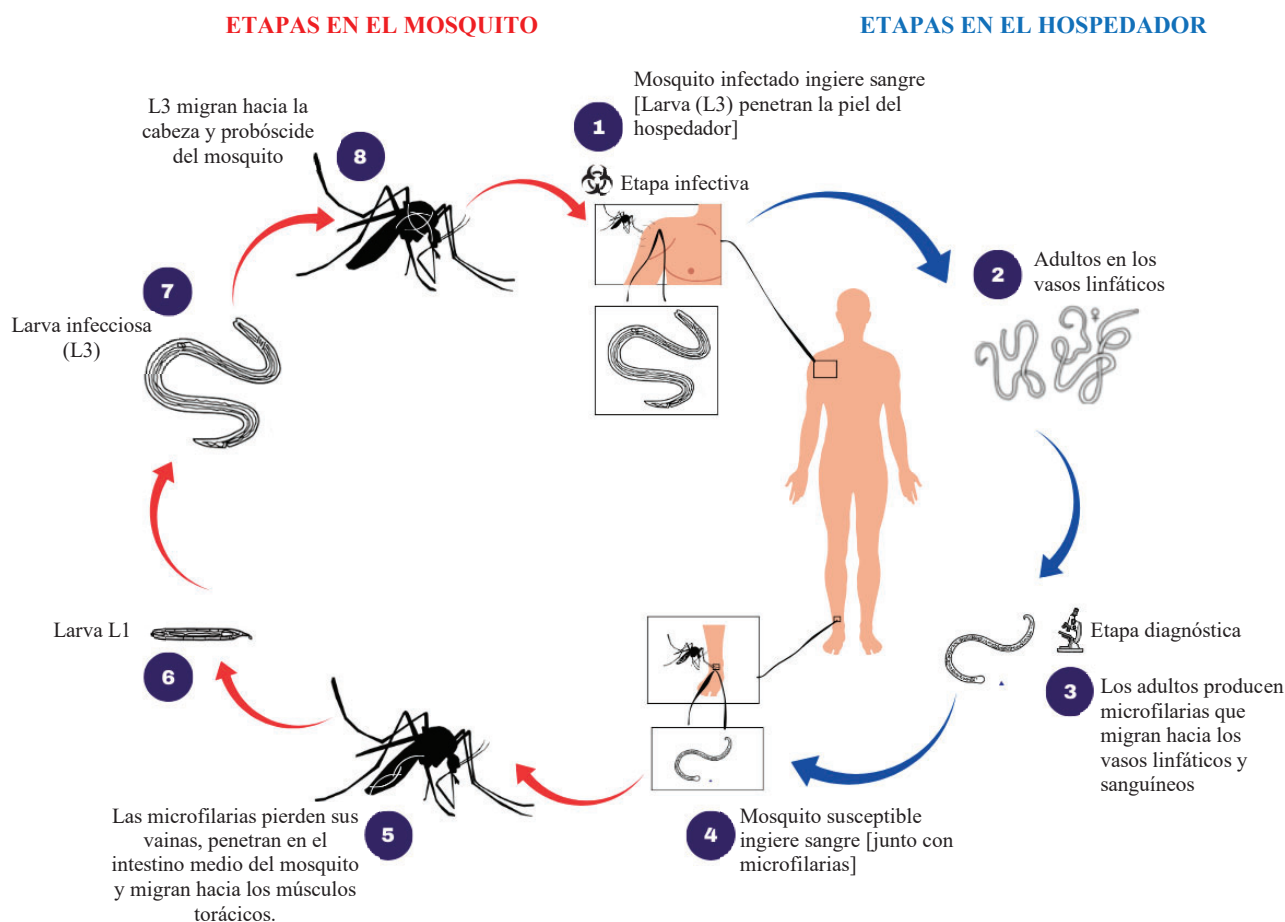


Figura 1.8 Ciclo de transmisión de la filariasis linfática (*Wuchereria bancrofti*). Adaptado de CDC (2019).

Independientemente de las enfermedades que transmiten, algunas especies como *Ae. albifasciatus* revisten importancia debido a sus explosiones demográficas que pueden producir desde pérdidas económicas derivadas de la disminución en la producción de leche debido al estrés que generan en el ganado (Raña et al. 1971, Ludueña Almeida & Gorla 1995) hasta malestar de las personas en las

actividades recreativas (Gallego et al. 2024). Además, la saliva inyectada en los humanos puede provocar desde leves manifestaciones en la piel hasta reacciones sistémicas significativas en personas susceptibles (Docena et al. 1999).

1.3 PATRONES DE INGESTA SANGUÍNEA DE LOS MOSQUITOS

En los estudios de ingesta sanguínea existen dos conceptos fundamentales de diferenciar, el patrón de alimentación y la preferencia de hospedador. A lo largo del documento, se hace referencia a las expresiones patrón de alimentación y patrón de ingesta sanguínea de manera indistinta. El patrón de alimentación de una población de mosquitos hace referencia a la distribución de las ingestas de sangre adquiridas de diferentes hospedadores en un tiempo y lugar específico. Este patrón puede estar influenciado por una gran variedad de factores intrínsecos y extrínsecos de la especie de mosquito, como se detallará más adelante en esta sección. Por su parte, la preferencia de hospedador se refiere específicamente a la tendencia a alimentarse de un hospedador particular (o grupo de hospedadores) en una proporción mayor a su abundancia en el ambiente. Esta es una característica exclusivamente intrínseca, determinada genéticamente (Fikrig & Harrington 2021). Aunque la alimentación con plantas también es un aspecto importante de la biología de los mosquitos, para los fines de esta investigación, el término "hospedador" se restringe a los vertebrados.

Las hembras de mosquitos utilizan una variedad de sentidos para identificar con precisión a los hospedadores en un entorno heterogéneo, entre los cuales se considera que el olfato es más importante que la visión y el gusto (Takken & Verhulst 2013). Las sustancias de los hospedadores a las que los mosquitos responden positivamente se conocen como kairomonas, es decir, compuestos químicos que provocan una respuesta conductual o fisiológica que es favorable de manera adaptativa para el receptor, pero no para el emisor. Algunos de estos compuestos son volátiles y sirven como señales de hospedador; por ejemplo, la respiración y el aliento, las secreciones epidérmicas y sus productos de descomposición bacteriana, el flato y los contaminantes urinarios y fecales de la superficie corporal (Clements 1999).

Algunas especies de mosquitos son generalistas y muestran un patrón de alimentación oportunista, mientras que otras son especialistas y se alimentan preferentemente de hospedadores específicos. En este sentido, se han llevado a cabo numerosas investigaciones para intentar predecir cómo deben seleccionar los organismos sus recursos de alimentación con el fin de maximizar su aptitud. Si la frecuencia de encuentros con especies de hospedadores favorables es alta y se obtiene un beneficio de energía neta cuando sólo se consume un subconjunto limitado, se predice la especialización del

hospedador (Lyimo & Ferguson 2009). En entornos donde la probabilidad de encontrar hospedadores es baja, esperar a un hospedador óptimo implica el riesgo de morir antes de alimentarse de un hospedador subóptimo. En este caso, diferencias moderadas en las ganancias energéticas favorecen el generalismo (Egas et al. 2004, Lyimo & Ferguson 2009). Evidentemente, las especies de mosquitos con poca preferencia por los hospedadores se verán menos afectadas por la distribución de un hospedador específico en comparación con aquellas especies que tienen un rango de hospedadores más limitado (Burkett-Cadena et al. 2014).

La variabilidad en los patrones de alimentación sanguínea se ha observado entre especies, entre poblaciones de la misma especie e incluso dentro de una población. Estas diferencias son causadas por factores intrínsecos y extrínsecos y pueden variar espacial y temporalmente. Los primeros incluyen tendencias innatas o genéticas (los individuos tienen más probabilidades de alimentarse del mismo hospedador que las generaciones anteriores), cuestiones relacionadas con el vuelo, el estado nutricional del mosquito (los individuos con deficiencias nutricionales son más propensos a alimentarse de hospedadores no preferidos) y las características conductuales (e.g. tendencia a alimentarse en interiores/exteriores, hora y frecuencia de alimentación) (Ulloa et al. 2004, Lyimo & Ferguson 2009, Takken & Verhulst 2013). Los factores extrínsecos son aquellos que dependen de los hospedadores (disponibilidad, abundancia, comportamientos defensivos, compuestos químicos liberados), así como de variables climáticas y características del hábitat (Clements 1999, Takken & Verhulst 2013, Stephenson et al. 2019).

Se ha observado plasticidad en la preferencia de hospedadores en muchas especies de mosquitos, por ejemplo, cuando las especies de hospedadores preferidas no están disponibles y el umbral de respuesta para la selección de hospedadores se ha reducido debido a reservas energéticas bajas, o cuando las condiciones climáticas adversas restringen la movilidad de los mosquitos, impidiéndoles desplazarse en busca de alimento (Takken & Verhulst 2013). Se ha reportado que algunas especies de *Culex* se alimentan preferentemente de aves durante la primavera y el verano, pero cuando la abundancia de aves disminuye, cambian a otros hospedadores, incluidos los humanos (Kilpatrick et al. 2006a, Simpson et al. 2012). Esto sugiere que, aunque las preferencias inherentes pueden prevalecer a nivel local, algunas especies están adaptadas para obtener sangre en diversas circunstancias, donde parece seleccionarse la especie de hospedador más abundante. La disponibilidad de hospedadores puede afectar los patrones de alimentación de los mosquitos de forma extrema, determinando incluso en si estos se alimentan o no de sangre. La producción autógena de huevos se ha asociado con especies que habitan en entornos en los que la disponibilidad de hospedadores está severamente limitada (Corbet 1967, Lyimo & Ferguson 2009). Específicamente, la influencia de la disponibilidad y

abundancia de hospedadores en los patrones de ingesta sanguínea de los mosquitos será abordada en el Capítulo IV.

Los patrones de ingesta sanguínea tienen un gran impacto en la adquisición y transmisión de patógenos. Una especie generalista tiene menos probabilidades de transmitir patógenos a un solo hospedador en comparación con una especie especialista, ya que la probabilidad de que se alimente dos veces de la misma especie de hospedador es baja. Por otro lado, los mosquitos generalistas son más propensos a actuar como vectores puente para infecciones zoonóticas, al transmitir un patógeno de un hospedador reservorio a otros hospedadores susceptibles (Fikrig & Harrington 2021). Dado que los hospedadores difieren considerablemente en su capacidad para infectarse y transmitir patógenos a los vectores, un entorno con una mayor diversidad de hospedadores puede promover un efecto de dilución. Esto significa que los hospedadores poco competentes reducen la probabilidad de infección de los hospedadores altamente competentes, lo que resulta en un menor riesgo para cualquier especie que sea afectada por el patógeno (Schmidt & Ostfeld 2001). Además de influir en la capacidad de dispersión del patógeno, el tipo de hospedador seleccionado también puede condicionar la producción de huevos y, por lo tanto, afectar la abundancia del vector (Takken & Verhulst 2013).

Aunque ser picado por un mosquito es una experiencia familiar para muchos, los factores que influyen en cuándo, dónde y por qué los mosquitos se alimentan de sangre resultan de una compleja interacción entre factores intrínsecos y extrínsecos, resaltando la variabilidad entre las distintas especies, poblaciones e incluso experiencias a lo largo de la vida de un mosquito (Tung & Fonseca 2024).

1.4 ENFOQUES PARA ESTUDIAR LOS PATRONES DE INGESTA SANGUÍNEA

Los estudios sobre los patrones de alimentación se realizan habitualmente identificando la ingesta de sangre de especímenes colectados mediante diferentes técnicas en el campo o registrando la preferencia de los mosquitos en situaciones de selección de hospedadores. Por tanto, los resultados de un determinado estudio y las conclusiones derivadas del mismo dependen principalmente del método utilizado para coleccionar los mosquitos y de la técnica de análisis de la ingesta sanguínea.

1.4.1 Métodos de colecta de mosquitos

Existe una amplia variedad de métodos para coleccionar mosquitos hematófagos, los cuales han sido revisados por Silver (2008). Estos métodos se pueden clasificar en dos grandes grupos, aquellos enfocados al estudio de mosquitos activos (con o sin el uso de atrayentes) y aquellos dirigidos a

colectar mosquitos en reposo. Los métodos de colecta con atrayentes incluyen trampas con luz, CO₂, trampas de atracción visual y sonidos, así como capturas con cebo animal o humano. Estas estrategias están orientadas principalmente a la colecta de hembras en búsqueda activa de hospedadores. Los métodos sin atrayentes están dirigidos a la población activa general de mosquitos, incluidas hembras que no están en búsqueda de hospedador. Estos métodos incluyen redes estacionarias, trampas Malaise, trampas adhesivas y trampas montadas en vehículos, entre otros. Los dispositivos para colectar especímenes en reposo incluyen aspiradores orales o a batería (e.g. mochila), redes manuales y cajas de reposo. Los diferentes tipos de trampas y dispositivos pueden combinarse según el objetivo específico del estudio, e.g. colectas con cebo humano utilizando aspiradores orales con la adición de CO₂ como atrayente se utilizan para caracterizar especies antropofílicas.

Métodos con atrayentes

Los métodos con atrayentes colectan principalmente hembras no alimentadas que buscan una ingesta de sangre y la elección del cebo o atrayente determinará el grupo de mosquitos colectados, e.g. especies mamofílicas u ornitofílicas. Aunque estas técnicas impiden la colecta de hembras alimentadas para la identificación de la sangre, son valiosas en experimentos controlados de selección de hospedadores. En particular, las colectas con cebo humano se han utilizado durante muchos años y siguen siendo el método más útil para colectar especies antropofágicas. Las variaciones de la simple colecta directa con cebo han incluido el encierro de humanos (u otros animales) en redes, jaulas o trampas. Las colectas con cebo humano son fáciles de realizar y no requieren equipos complicados o costosos, pero consumen tiempo y personal, están sujetas a la variabilidad entre operadores y ubicaciones, y son poco prácticas en muchos entornos urbanos (Silver 2008). También pueden presentar problemas éticos si la región de estudio está bajo propagación de patógenos transmitidos por mosquitos (Achee et al. 2015), lo que puede resolverse con trampas donde el cebo humano se encuentra protegido, como la de doble red con cebo humano adaptada por Tangena et al. (2015).

Otros dispositivos atrayentes, como las trampas de luz CDC, las trampas de oviposición de mosquitos (TOM) y las trampas centinela BG, son más eficaces para colectar grandes cantidades de mosquitos, pero están sesgados hacia la colecta de individuos de ciertas especies en diferentes etapas de desarrollo (e.g. las TOM se utilizan principalmente para colectar huevos y hembras de *Ae. albopictus* y *Ae. aegypti*) y estados fisiológicos (Silver 2008, Li et al. 2016). Además, el alto costo y la dependencia del personal para la instalación y recuperación impiden su uso en colectas a gran escala, particularmente en entornos con escasos recursos (Vazquez-Prokopec et al. 2009).

Métodos sin atrayentes

Las colectas obtenidas con trampas sin atrayentes son menos sesgadas y deberían ser representativas de todas las especies presentes. Sin embargo, sólo muestrean la proporción de la población que está activa, que comprende hembras no alimentadas (aunque puede que no todas estén buscando activamente un hospedador) y machos activos. Una desventaja de estas trampas es que el número de especímenes colectados suele ser reducido, a menos que las poblaciones sean abundantes, ya que solo atrapan mosquitos en su área inmediata. Aunque se realizan esfuerzos para minimizar el sesgo de muestreo, la sola presencia física de la trampa puede provocar respuestas visuales en los mosquitos, atrayéndolos o repeliéndolos (Silver 2008).

Métodos para coleccionar mosquitos en reposo

Los mosquitos adultos, que pasan la mayor parte de su tiempo en reposo o descansando, no son adecuadamente muestreados con trampas con o sin atrayentes. Las colectas de mosquitos en reposo incluyen hembras alimentadas y pueden ser particularmente útiles para identificar ingestas de sangre en el campo. Aunque la búsqueda de mosquitos descansando al aire libre (e.g. entre la vegetación, en árboles huecos, madrigueras de animales) puede consumir mucho tiempo y ser poco gratificante, se han obtenido cantidades considerables de mosquitos mediante aspiración, redes de barrido o el uso de refugios artificiales para descanso (Chandler et al. 1976a, Chandler et al. 1976b, Nasci & Edman 1984, Komar et al. 1995). En el caso de las colectas en interiores, los aspiradores a batería, como el aspirador de mochila CDC, se consideran el método más eficaz para coleccionar ciertas especies de mosquitos domésticos (Edman et al. 1992, Clark et al. 1994). Vazquez-Prokopec et al. (2009) diseñaron un aspirador de mosquitos con la misma capacidad de aspiración que el aspirador de mochila CDC, pero es más pequeño, ligero y económico.

En resumen, las trampas con cebo animal pueden ser útiles para determinar qué especies de mosquitos se alimentan de ciertos animales y para estudiar las preferencias entre un conjunto de hospedadores ofrecidos en un entorno artificial o de semicampo. Para obtener hembras con ingesta sanguínea en el campo, las técnicas enfocadas en la colección de la población de mosquitos en reposo son las más adecuadas. Este enfoque, aunque depende del tiempo y el espacio, puede ayudar a comprender el riesgo de picaduras y, a medida que se acumulen evidencias, si proporciona resultados sólidos sobre los patrones de alimentación del hospedador, puede sugerir preferencias de hospedador (Fikrig & Harrington 2021). En el Capítulo II, se abordará la comparación de los resultados obtenidos

mediante distintas técnicas para una misma especie de mosquito, utilizando la información disponible en Sudamérica.

1.4.2 Índices para estudiar preferencia

Además de los enfoques experimentales como las trampas cebadas con distintos vertebrados, la preferencia alimentaria puede evaluarse en condiciones naturales si se considera la disponibilidad de vertebrados en el ambiente. Esto puede lograrse mediante varios métodos: observación, conteo, captura/trampeo de animales, cámaras trampa, entrevistas en hogares y datos publicados o no publicados previamente sobre el área de estudio. Esta información luego se combina con las identificaciones de ingestas de sangre en el cálculo de métricas de alimentación, las cuales indican sobre o subutilización de un determinado hospedador, sugiriendo preferencia o evitación.

En primer lugar, el índice de sangre humana (HBI, por sus siglas en inglés) se define como la proporción de mosquitos que se han alimentado de humanos sobre el número total de mosquitos alimentados (Silver 2008). Aunque este índice no considera la disponibilidad del hospedador, es ampliamente utilizado debido a su relevancia epidemiológica, ya que cuantifica el grado de contacto humano-vector y sirve para estimar el riesgo de transmisión **de enfermedades** que afectan al ser humano. Este índice refleja la elección del vertebrado, la cual no necesariamente es congruente con la preferencia del hospedador (Zimmerman et al. 2006).

Otras métricas que sí tienen en cuenta la abundancia relativa de las especies de vertebrados son la proporción de alimentación (FR, por Forage Ratio en inglés) y el índice de alimentación (FI, por Feeding Index en inglés). La primera compara la tendencia relativa a alimentarse de sangre de todos los hospedadores de la población, dividiendo la proporción de todas las ingestas de sangre tomadas de un animal determinado por la proporción que esa especie representa en la población total de vertebrados (Hess et al. 1968). Por su parte, el FI se define como la frecuencia de mosquitos que se alimentaron de un hospedador con respecto a otro hospedador, dividida por la frecuencia esperada de mosquitos que se alimentaron de estos dos hospedadores según la presencia de los hospedadores considerados (Kay et al. 1979). Si bien dichas métricas proporcionan información adicional más allá de una lista de especies hospedadoras y permiten el acercamiento al concepto de preferencia alimentaria han sido criticadas por las limitaciones metodológicas asociadas a su cálculo, desde los desafíos de censar vertebrados y por equiparar la abundancia del vertebrado con su disponibilidad. Además, estas métricas no permiten distinguir la preferencia innata por un hospedador de una variedad de factores externos e internos tales como la accesibilidad de los hospedadores, experiencias

previas de alimentación y el estado fisiológico de los mosquitos, los cuales demuestran un cierto grado de plasticidad de los mosquitos para adaptarse a distintas condiciones (Lyimo & Ferguson 2009, Takken & Verhulst 2013).

1.4.3 Técnicas de identificación de ingesta

La ingesta de sangre puede determinarse mediante una amplia gama de herramientas que han evolucionado con el tiempo, desde la prueba de precipitina hasta los recientes avances en técnicas moleculares. En general, el análisis de la ingesta de sangre es más eficaz en mosquitos colectados entre las 24 a 72 horas posteriores a la alimentación, periodo que varía según la sensibilidad de la técnica analítica (Gomes et al. 2001, Kent & Norris 2005). La cantidad de sangre ingerida y el grado de digestión también afectan al éxito de la identificación del hospedador (Martínez-de la Puente et al. 2013). La escala Sella clasifica el grado de digestión en siete etapas (I: abdomen vacío; II: completamente alimentada con sangre roja intensa; III: parcialmente alimentada con sangre oscura; IV: prácticamente a la mitad lleno y a la mitad vacío con sangre oscura; V: menos de la mitad con sangre negra; VI: solo la parte anterior y ventral con sangre negra; VII: abdomen lleno, con huevos o sin sangre visible; Figura 1.9) permitiendo estimar tanto la cantidad de sangre en el estómago como el desarrollo ovárico en las hembras a lo largo del tiempo. Estas características son claramente visibles a través del fino tegumento abdominal, lo que facilita la observación detallada de estos procesos. Actualmente, estas etapas establecidas originalmente por Sella (1920) para mosquitos *Anopheles*, también se utilizan para otros géneros de mosquitos de importancia médica y veterinaria, así como para flebótomos y otros dípteros (Detinova et al. 1962).

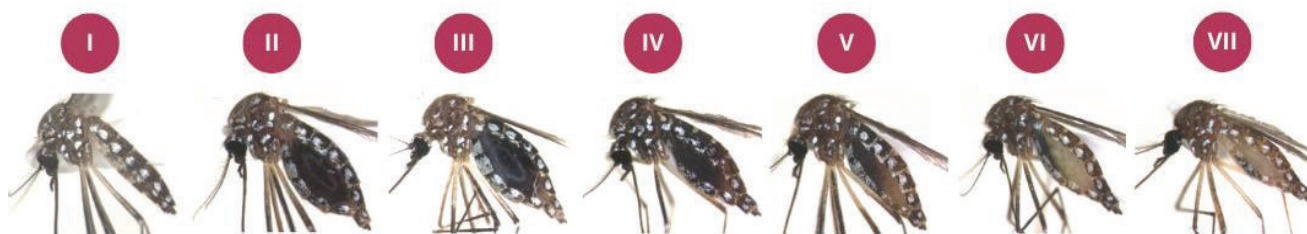


Figura 1.9 Hembras de *Ae. aegypti* en diferentes grados de digestión, según la escala Sella. Adaptado de Santos et al. (2019).

Técnicas serológicas

Estas técnicas fueron diseñadas inicialmente con fines forenses y académicos. El trabajo pionero de Nuttall (1904) marcó un hito en la identificación de la ingesta sanguínea de diferentes taxones animales. Sin embargo, pasaron casi 20 años antes de que la prueba de precipitina fuera adaptada para analizar la ingesta de sangre de mosquitos. En 1921, Roubaud (1921) postuló la existencia de dos razas fisiológicas de *An. maculipennis* con diferentes patrones de alimentación, una exclusivamente antropofílica y la otra zoofílica, con preferencia más o menos definida por los animales (sic), y destacó la importancia epidemiológica de la “desviación animal” en la desaparición espontánea de la malaria. Esta teoría suscitó un debate considerable, y un método de prueba de precipitina para analizar el contenido estomacal de los mosquitos fue utilizado de manera independiente en 1922 por Grassi (citado por Missiroli & Hackett (1929)) y por King & Bull (1923), y posteriormente, de manera más amplia, por Darling (1925) y Boyd (1930). Durante la década de 1930, el método de prueba de precipitina fue ganando popularidad y tres décadas más tarde, siguiendo una iniciativa de la Organización Mundial de la Salud, se realizaron 124.000 pruebas en ingestas de sangre de 92 especies de *Anopheles*, utilizando en gran medida antisueros dirigidos contra humanos y animales domésticos (Bruce-Chwatt et al. 1966). También se han producido antisueros para el análisis de ingestas de sangre de un amplio rango de animales silvestres, especialmente aves, ya que se sabía que muchas de ellas portaban arbovirus transmitidos por mosquitos (Edman 1971, Tempelis 1975).

La técnica de prueba de precipitina se utilizó principalmente hasta el desarrollo del ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA, por sus siglas en inglés), en el que las reacciones antígeno-anticuerpo se monitorean enzimáticamente. Esta técnica se utilizó por primera vez para la identificación de ingestas sanguíneas en la década de 1980 (Washino & Tempelis 1983, Clements 1999) y fue mejorada con la prueba ELISA sandwich de anticuerpos por Wirtz et al. (1985). Casi simultáneamente, Boreham & Lenahan (1976) desarrollaron dos técnicas para medir la incidencia de múltiples alimentaciones por parte de los mosquitos. La primera técnica detecta las sustancias del grupo sanguíneo ABO para identificar diferentes hospedadores humanos en las ingestas de sangre de los mosquitos, lo cual es relevante en enfermedades como la malaria (Chung et al. 2005, Muñoz-Vahos et al. 2012). Este sistema se puede utilizar hasta 24 - 30 horas después de la alimentación y está limitado por las reacciones cruzadas que se desarrollan entre las sustancias del grupo sanguíneo durante la digestión. La segunda técnica se enfoca en las haptoglobinas, proteínas séricas que pueden detectarse para determinar el tipo de sangre en ingestas individuales hasta 16 - 20 horas después de la alimentación (Boreham & Lenahan 1976, Washino & Tempelis 1983).

A pesar de las importantes contribuciones realizadas en el estudio de los patrones de alimentación de los mosquitos durante más de un siglo a partir de técnicas serológicas, éstas presentan varias desventajas. Por ejemplo, tanto la prueba de precipitina como el ELISA consisten en identificar hospedadores al exponer la sangre extraída de los ejemplares alimentados a inmunoglobulina G (IgG) conjugada contra especies hospedadoras potenciales. Por ende, estas técnicas requieren la selección a priori de los vertebrados que se analizarán y excluyen a otros posibles hospedadores potenciales, ya que están limitadas por la disponibilidad de antisueros para algunas especies objetivo. Por otra parte, con frecuencia no es posible identificar la fuente de ingesta a nivel de especie debido a que algunos anticuerpos carecen de especificidad. Esto puede dar como resultado la unión entre las proteínas séricas de especies no objetivo (reactividad cruzada) y un alto porcentaje de falsos positivos (Clements 1999).

Herramientas moleculares

Desde la proliferación de herramientas moleculares, se comenzó a desarrollar un grupo de técnicas que permiten una mayor especificidad en la identificación del hospedador. Estos métodos consisten en la amplificación de secuencias de diferentes genes utilizando cebadores específicos o universales. Entre las técnicas utilizadas se incluyen la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la secuenciación de ADN, el uso de cebadores específicos, el polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción por PCR (PCR-RFLP, por sus siglas en inglés), el polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción terminal (T-RFLP, por sus siglas en inglés), la PCR en tiempo real, el análisis de heterodúplex, la hibridación reversa en línea (RLB, por sus siglas en inglés), el perfil de ADN (Kent 2009) y la espectrometría de masas de desorción/ionización láser asistida por matriz con tiempo de vuelo (MALDI-TOF-MS, por sus siglas en inglés) (Cebrián-Camisón et al. 2020). Principalmente, la combinación de amplificación de segmentos conservados por PCR y su posterior secuenciación, junto una creciente riqueza de secuencias de ADN disponibles públicamente, han logrado una identificación exitosa de las ingestas sanguíneas a nivel de especies de hospedadores (Kent 2009, Cebrián-Camisón et al. 2020).

Coulson et al. (1990) fueron los primeros en realizar un análisis de ADN del hospedador utilizando segmentos repetitivos en genes nucleares, con el objetivo de identificar hospedadores humanos en las ingestas de sangre de mosquitos. Debido a que los eritrocitos y trombocitos son células anucleadas, la cantidad de ADN en sangre humana aislada de una hembra completamente alimentada de *An. gambiae* (alrededor de 10 ng) fue insuficiente para la elaboración de perfiles de ADN con sondas de locus específicos o de múltiples loci. Para superar este problema, se utilizó la PCR para amplificar

ciertas secuencias dentro del ADN humano contenido en la ingesta de sangre. El estudio de secuencias ADN microsatélites tiene la ventaja de ser fácilmente amplificado incluso a partir de ingestas de sangre parcialmente degradadas debido a su pequeña longitud (Mukabana et al. 2002), y se ha aplicado para la genotipificación única de hospedadores individuales. Los tamaños de los alelos en múltiples loci se caracterizan para generar un perfil único para cada individuo, y estos perfiles se comparan con los obtenidos a partir de las ingestas de sangre para determinar la heterogeneidad en los patrones de alimentación sanguínea. Esta técnica se ha aplicado principalmente en el estudio de mosquitos antropofágicos, pero también en especímenes que se alimentan de pinzones y cerdos (Darbro et al. 2007, Keven et al. 2019).

El método molecular más directo para la identificación de la ingesta de sangre de los mosquitos es la secuenciación del ADN. Sin embargo, sus costos pueden dificultar el procesamiento de grandes cantidades de muestras. Este enfoque es ideal cuando se estudian artrópodos zoofílicos con el potencial de alimentarse de diversas especies de animales domésticos y silvestres, o cuando se desconoce el rango de hospedadores de la especie en estudio. Se emplean cebadores conservados para amplificar fragmentos de ADN homólogos de diversas fuentes de sangre potenciales, y la secuencia obtenida se compara con cualquiera de las disponibles en bases de datos de acceso abierto. En particular, la gran cantidad de secuencias disponibles en la base de datos de fragmentos de ADN secuenciados por usuarios de todo el mundo (Barcode of Life Data System o el GenBank) permite la comparación de la secuencia desconocida con miles de hospedadores potenciales. Si la fuente exacta de la ingesta de sangre no está disponible en la base de datos, es posible que se pueda asignar al filo, orden, familia o género correcto a partir de la lista de coincidencias principales.

Otros métodos evitan la secuenciación al amplificar regiones conservadas para taxones particulares basándose en cebadores específicos en una PCR multiplex (e.g. Kent & Norris 2005, de Carvalho et al. 2014, Field et al. 2020), o combinando PCR con endonucleasas de restricción que escinden el ADN en secuencias específicas (e.g. Oshaghi et al. 2006). En ambos casos, los segmentos de diferentes tamaños se resuelven visualmente mediante electroforesis en gel. Los métodos menos comunes incluyen T-RFLP y el análisis de heterodúplex (e.g. Meece et al. 2005; ver Kent 2009 para una descripción completa). Más recientemente, los métodos basados en MALDI-TOF MS se han adaptado de la identificación de especies de artrópodos al análisis de ingesta de sangre (e.g. Lee et al. 2015, Main et al. 2016). Esta es una técnica proteómica basada en el perfil de las proteínas de la ingesta de sangre y en la identificación del hospedador mediante la comparación del espectro de masas de una muestra desconocida y una base de datos de referencia. Esta técnica ya se ha utilizado con éxito para la identificación de hospedadores de *Ae. albopictus* en condiciones de laboratorio,

tanto para ingestas de sangre individuales como mixtas. Sin embargo, aún hay escasa evidencia de su efectividad para identificar ingestas de sangre de mosquitos colectados en campo, dada la gran diversidad de vertebrados presentes en ambientes silvestres (Tandina et al. 2020). Finalmente, la secuenciación de nueva generación permite la secuenciación de millones de fragmentos de ADN, a partir de miles de plantillas de ADN en paralelo. Esta tecnología se ha aplicado recientemente a la identificación de la ingesta de sangre de mosquitos con resultados muy prometedores (e.g. Logue et al. 2016, Reeves et al. 2018b).

Marcadores diagnósticos para la identificación de la ingesta de sangre

Existen diferentes genes que pueden ser utilizados como marcadores diagnósticos para la identificación molecular de la ingesta sanguínea, tales como genes de ARN ribosomal (ARNr), genes nucleares, secuencias repetitivas de ADN, incluyendo micro y minisatélites, y genes mitocondriales, siendo estos últimos los más utilizados (Kent 2009, Cebrián-Camisón et al. 2020). Las mitocondrias son orgánulos heredados de la madre que contienen genomas independientes y están presentes en grandes cantidades (cientos o miles por célula). Debido a que el genoma mitocondrial evoluciona de cinco a diez veces más rápido que el genoma nuclear, puede emplearse para resolver grupos taxonómicos más amplios, como órdenes y familias, y también para distinguir subpoblaciones dentro de un taxón específico. Los genes mitocondriales, especialmente el citocromo b (cytb) y el gen citocromo c oxidasa I (COI) son ampliamente utilizados para la identificación de la ingesta sanguínea de mosquitos, y se han empleado con éxito con el potencial de identificar ingestas de sangre mixtas (Meece et al. 2005, Molaei et al. 2007, 2008, Silver 2008, Kent 2009). Entre sus ventajas, el alto número de copias y la alta variabilidad que presentan incluso entre especies estrechamente relacionadas, hacen que sea una opción robusta para analizar el ADN de vertebrados en pequeñas ingestas de sangre de artrópodos.

En eucariotas el ARNr es una familia multigénica organizada en unidades repetidas o en tándem dentro de una región organizadora nuclear. Cada unidad repetida contiene los genes ARNr 18S, 5.8S y 28S que son regiones conservadas y poco variables, intercaladas por dos regiones más variables de espaciadores no codificantes, llamados espaciadores transcritos internos ITS-1 e ITS-2. Además, la mitocondria codifica dos ARNr en su propio genoma: 12S y 16S. Al igual que los genes mitocondriales, el elevado número de copias de los genes del ARNr promete una amplificación robusta a partir de una cantidad mínima de material inicial. Sin embargo, ciertas regiones del ARNr se mantienen altamente conservadas, permaneciendo sin cambios en organismos muy alejados

evolutivamente, lo que hace que los genes mitocondriales sean potencialmente más útiles (Kent 2009).

Los genes nucleares también se han utilizado para identificar la ingesta de sangre de vectores, aunque presentan limitaciones como la baja variabilidad de las secuencias en especies estrechamente relacionadas y que un número reducido de vertebrados ha sido caracterizado para estos genes. Además, al trabajar con un volumen tan pequeño de material inicial, la amplificación del ADN objetivo puede ser más desafiante, especialmente en el caso de las células sanguíneas de los mamíferos que son anucleadas, lo que limita el uso de estos genes (Kent 2009). Las secuencias repetitivas de ADN son regiones altamente polimórficas de ADN e incluyen microsatélites y minisatélites (Ellegren 2000). A lo largo de la secuencia de ADN es posible encontrar secuencias en las que se repiten de 2 a 9 pb, denominados microsatélites, o repeticiones de 10 a 60 pb llamados minisatélites. Estas regiones de ADN repetidas en bloque o en tándem se distribuyen en regiones codificantes y no codificantes, y están sujetas a procesos como duplicación o recombinación, por lo que pueden ser altamente variables y diferir mucho entre individuos, lo que las convierte en marcadores genéticos muy informativos. Han sido utilizados en campos diversos como la genética de conservación, estudios genéticos poblacionales en insectos, pruebas de paternidad, huellas dactilares de ADN con fines forenses y patrones de alimentación de artrópodos (Ellegren 2000, Kent 2009).

En general, los diferentes enfoques para la identificación de hospedadores vertebrados de mosquitos presentan ventajas y desventajas que deben evaluarse en función de la accesibilidad a equipos de laboratorio especializados, tiempo, conservación de las muestras, precisión en la identificación de especies de hospedadores y costos económicos de los análisis.

1.5 LOS MOSQUITOS Y EL AMBIENTE

Las ciudades son uno de los ecosistemas más profundamente alterados del planeta (Collins et al. 2000), caracterizadas por un intrincado mosaico de usos del suelo con diferentes niveles de complejidad estructural y disposición espacial heterogénea (Andersson 2006). Aproximadamente el 55% de la población mundial reside en urbanizaciones, y se estima que para el año 2050 esta cifra alcanzará casi el 70% (ONU 2020, Banco Mundial 2023). Argentina se encuentra entre los países más urbanizados del mundo, con el 92% de su población residiendo en asentamientos urbanos (INDEC 2022, Banco Mundial 2023), superando el promedio regional del 83% (CEPAL 2017). Estos ambientes albergan una amplia diversidad de especies silvestres y domésticas, incluyendo **portadores de enfermedades** como aves y mamíferos, y vectores como los mosquitos. Los mosquitos juegan un

rol importante en estos ambientes debido a que ciertas especies están específicamente adaptadas a hábitats alterados por el ser humano (Hopken et al. 2021).

Los usos del suelo, tanto urbanos como rurales, se caracterizan por una combinación única de recursos que favorecen la supervivencia y reproducción de los mosquitos. Estos recursos incluyen una alta densidad de contenedores, cobertura vegetal que proporciona fuentes de néctar y refugio, diferentes tipos y cantidades **de cuerpos de agua**, hospedadores de quién alimentarse o ingerir sangre, y un nivel particular de conectividad entre parches de hábitat óptimos. La asociación entre las características del ambiente y la distribución y abundancia de los mosquitos han sido ampliamente reconocidas (e.g. Trawinski & Mackay 2010, Rubio et al. 2011, Chuang et al. 2012, Cardo et al. 2018). Factores como la urbanización, la densidad poblacional, el tipo de cobertura vegetal, las características de las redes hidrológicas, y la localización de los criaderos potenciales, de los sitios de refugio y de las fuentes de alimento también han sido relacionadas con la distribución de algunas especies de mosquitos, en general de relevancia médica y/o veterinaria (e.g. Bidlingmayer 1985, Wekesa et al. 1996, Overgaard et al. 2003, Rubio et al. 2013). En este sentido, las ciudades y sus alrededores, con sus variados usos del suelo, proporcionan un excelente entorno para realizar estudios de ingesta sanguínea de mosquitos, dado que son mosaicos con altos niveles de complejidad estructural y disposición espacial heterogénea como consecuencia de la degradación, la fragmentación y el reemplazo de hábitats naturales (Andersson 2006).

En general, la modificación de los ambientes naturales incrementa el riesgo de contacto entre mosquitos y humanos y, en consecuencia, la **propagación de enfermedades** transmitidas por vectores (Pereira et al. 2001). La preocupación por los patógenos emergentes y el rol que cumplen los mosquitos en su introducción en ambientes antrópicos es una de las razones por las que se han realizado diversos estudios sobre los patrones de ingesta sanguínea de los mosquitos en ambientes modificados por el hombre (e.g. de Carvalho et al. 2014, Sivan et al. 2015, Cardo & Vezzani 2023, Blom et al. 2024). Sin embargo, en la Provincia de Buenos Aires, la información sobre los patrones de alimentación sanguínea de la mayoría de las especies de culícidos sigue siendo limitada, a pesar de los avances recientes. Esta carencia de información constituye la principal motivación de esta tesis. En un sentido más amplio, el escenario global y local de emergencia y reemergencia de patógenos transmitidos por mosquitos, resalta la necesidad de intensificar los estudios sobre la interacción entre los culícidos, sus hospedadores y el ambiente antrópico, especialmente en regiones donde la información es escasa o nula. **En el Capítulo III, se abordará la comparación de los patrones de ingesta sanguínea de mosquitos entre distintos usos del suelo urbano en localidades de distinta densidad poblacional.**

1.6 OBJETIVOS E HIPÓTESIS

El presente trabajo consta de un objetivo general. Luego, se presentan 3 objetivos específicos junto con las hipótesis asociadas y se hace referencia al capítulo en el cual será abordado cada objetivo.

OBJETIVO GENERAL

Caracterizar los patrones de ingesta sanguínea de mosquitos **en usos del suelo urbanos y rurales.**

Objetivo Específico 1 (Capítulo II).

Establecer una línea de base del estado de conocimiento de los patrones de ingesta sanguínea de mosquitos en Sudamérica.

Hipótesis asociadas:

1a. Los patrones de ingesta sanguínea varían entre especies de mosquitos.

1b. El patrón de ingesta sanguínea observado para una misma especie de mosquito varía según la metodología de estudio utilizada.

1c. Se desconocen los patrones de ingesta sanguínea de la mayoría de las especies de mosquitos en Argentina, así como en el resto del continente.

Objetivo Específico 2 (Capítulo III).

Comparar los patrones de ingesta sanguínea de mosquitos entre **áreas verdes y domésticas** del ambiente urbano en localidades de distinto tamaño poblacional.

Hipótesis asociadas:

2a. Las interacciones mosquito-hospedador varían entre usos del suelo de la misma localidad.

2b. Las interacciones mosquito-hospedador varían entre distintas localidades para un mismo uso del suelo urbano.

1.6 OBJETIVOS E HIPÓTESIS

Objetivo específico 3 (Capítulo IV).

Evaluar los patrones de ingesta sanguínea de mosquitos **comparando usos del suelo** con una especie de vertebrado sobreabundante.

Hipótesis asociada:

En presencia de un vertebrado sobreabundante, las especies de mosquitos se alimentan principalmente de este.

CAPÍTULO II

ESTADO DE CONOCIMIENTO DE LOS PATRONES DE INGESTA SANGUÍNEA DE MOSQUITOS EN SUDAMÉRICA

En este capítulo, se analiza el estado de conocimiento respecto a los patrones de ingesta sanguínea de culicidos en Sudamérica y se identifican las áreas vacantes para delinear futuros intereses de investigación

Sudamérica es un continente formado por 13 países; Argentina, Brasil, Bolivia, Chile, Colombia, Ecuador, Guayana Francesa, Guyana, Paraguay, Perú, Surinam, Uruguay y Venezuela. Con una superficie de aproximadamente 17.815.000 km², alberga una población de 436 millones de habitantes, que representa el 5,2% de la población global. Brasil, es el país más extenso y poblado del continente, ocupando casi la mitad de la superficie. En cuanto a la distribución de la población, alrededor del 87% vive en áreas urbanas, mientras que el 13% reside en zonas rurales. En países como Argentina, Brasil, Colombia, Chile, Guayana Francesa, Uruguay y Venezuela, la población rural representa menos del 20%, en contraste con Bolivia, Ecuador, Paraguay, Perú y Surinam, donde las cifras oscilan entre el 20% y 40%. Guyana destaca por presentar el mayor porcentaje de población rural, alcanzando el 73% (CEPAL 2017, Banco Mundial 2024). Sudamérica presenta una amplia gama de climas que varían desde los cálidos y húmedos hasta los fríos y secos. En las zonas de cordillera el clima varía en función de la altitud. Esta variedad climática, impulsada por la extensa geografía del continente, no solo da lugar a una gran diversidad de ecosistemas y bioregiones, sino que también promueven una diversidad endémica única de patógenos, vectores y hospedadores.

Un total de 832 especies de mosquitos han sido registradas en Sudamérica (WRBU 2021). Del total de especies, una pequeña porción ha sido reportada como vector en el continente y, de éstas, solo algunos géneros o especies han sido objeto de estudio debido a su relevancia en los ciclos de transmisión de patógenos. Como se ha descrito en la sección 1.3 (Patrones de ingesta sanguínea de los mosquitos), la disponibilidad de hospedadores y las condiciones ambientales son factores determinantes en las variaciones espacio-temporales de los patrones de alimentación de los culícidos. Esto implica que cada par mosquito-hospedador puede presentar un patrón particular en diferentes regiones. Por lo tanto, comprender estas dinámicas es esencial para evaluar el riesgo epidemiológico y desarrollar estrategias o intervenciones específicas en la prevención y control de enfermedades transmitidas por mosquitos basadas en patrones locales.

En Sudamérica, existe una amplia gama de enfermedades transmitidas por mosquitos, algunas de las cuales son actualmente endémicas, como la fiebre amarilla. Otras han sido introducidas accidentalmente y se consideran emergentes en el continente, como la fiebre Zika. Los mosquitos del género *Anopheles* son vectores de la malaria, enfermedad causada por protozoos del género *Plasmodium*. La transmisión varía regionalmente según el clima y la biogeografía, y se ve exacerbada por actividades antropogénicas como la deforestación, la minería y las represas, que crean nuevos hábitats larvales y promueven la movilidad humana hacia áreas con poca infraestructura de salud pública. En Sudamérica, la mayoría de los casos ocurren en la selva amazónica de Venezuela, Brasil, Colombia, Perú y Guyana, con una incidencia estimada de hasta 44 por cada 1.000 personas en riesgo

en 2018 (Roser & Ritchie 2019). Las principales especies de mosquitos involucradas en la región son *Anopheles darlingi*, *Anopheles nuneztovari*, *Anopheles aquasalis* y *Anopheles albitarsis* s.l. (Rodríguez 2006, Laporta et al. 2015).

Aedes aegypti es una especie altamente domesticada, considerada actualmente endémica en Sudamérica después de su introducción a través de barcos en el siglo XV (Powell et al. 2013). Es el vector principal de los **virus del dengue (DEN)**, Zika (ZIK) y chikungunya (CHIK) que se transmiten en todo el continente. La incidencia del dengue se ha incrementado en la región en las últimas tres décadas. Las tasas de incidencia más altas se notificaron en 2023 en varios países, con Brasil a la cabeza de la lista (>2 millones de casos, OMS 2023a). El virus del ZIK se identificó por primera vez en Sudamérica, con una gran epidemia en Brasil, durante el año 2014, donde se lo asoció con un incremento de casos del síndrome de Guillain-Barré y anomalías congénitas (Borchering et al. 2019). La transmisión del ZIK persiste en varios países, pero en general se ha mantenido en niveles bajos desde 2018 (OMS 2023b). La transmisión autóctona del virus del CHIK fue confirmada por primera vez en el continente en diciembre de 2013. Desde entonces, el virus se ha extendido por la mayor parte de la región, mostrando un aumento significativo en la incidencia, con más de un millón de casos reportados desde su primera detección (OPS 2024).

Aedes aegypti también es el vector urbano del virus de la fiebre amarilla (FA). A pesar de la disponibilidad de una vacuna eficaz, sigue siendo una preocupación importante de salud pública debido a que la tasa de mortalidad puede alcanzar el 50% entre los casos sintomáticos (Chen & Wilson 2020). La FA es una enfermedad zoonótica endémica de las zonas boscosas. Presenta dos ciclos de transmisión. El primer ciclo es urbano, donde el hospedador principal es el ser humano y el vector es el mosquito *Ae. aegypti*. El segundo ciclo es selvático, circula entre primates no humanos y los principales vectores son *Haemagogus janthinomys* y *Haemagogus leucocelaenus*. Otras especies de *Haemagogus* (4 especies), *Sabethes* (5), *Aedes* (3) y *Psorophora* (2) también han sido caracterizadas como vectores de importancia local (Segura et al. 2021, Lizuain et al. 2024). En este contexto, los mosquitos *Haemagogus* y *Sabethes* son considerados vectores candidatos para un posible ciclo selvático del virus del ZIK en el Nuevo Mundo (Karna et al. 2018).

Se ha demostrado que *Ae. albopictus* es vector al menos de 26 arbovirus, incluyendo los virus del DEN, ZIK y CHIK (Camacho-Gomez & Zuleta 2019, Yee et al. 2022). Esta especie invasora estuvo restringida a Asia hasta su introducción en el hemisferio occidental, probablemente a través de envíos de neumáticos usados cerca de 1985 en Estados Unidos y Brasil (Lounibos 2002). Sus hábitos agresivos durante el día y su rol potencial como vector puente aumentan su relevancia epidemiológica (Unlu et al. 2021).

Varias especies del género *Culex* han sido incriminadas como vectores principales de diferentes Flavivirus en el continente. Los ciclos de transmisión enzoótica de los virus del NO y de la encefalitis de Saint Louis (ESL) involucran a los mosquitos del género *Culex* y a las aves, mientras que los humanos y otros mamíferos se consideran hospedadores terminales en el ciclo epizootico (Sección 1.2). El virus del NO se introdujo en América del Norte en 1999 y tardó solo dos años en propagarse a Sudamérica. A diferencia de otras regiones, los casos humanos han sido escasos y las tasas de mortalidad de aves y equinos bajas (Díaz et al. 2011, Batallán et al. 2020). Por su parte, la ESL se distribuye exclusivamente en el continente americano. Aunque en Sudamérica la información es prácticamente nula, en el centro de Argentina se han caracterizado a los mosquitos *Cx. quinquefasciatus* y *Culex interfor* como parte del ciclo. Otros mosquitos de los géneros *Aedes*, *Anopheles*, y *Psorophora* también han sido detectados infectados durante periodos enzoóticos (Díaz et al. 2012).

El virus Rocio (ROC) es una enfermedad flaviviral epidémica observada por primera vez en el estado de São Paulo, Brasil, en 1975. *Psorophora ferox* fue la única especie de mosquito directamente implicada en la transmisión mediante la detección del virus en especímenes recolectados en el campo. Sin embargo, los mosquitos *Culex tarsalis* y *Cx. pipiens* han demostrado ser vectores experimentales relativamente eficientes (Mitchell 2001). Otros virus de la familia *Togaviridae*, género *Alphavirus* presentes en Sudamérica incluyen la encefalitis equina del este (EEE), la encefalitis equina del oeste (EEO), la encefalitis equina venezolana (EEV) y el virus Mayaro (MAY). El virus de la EEE fue aislado por primera vez en equinos en Argentina durante un brote ocurrido en 1936 y ha causado epizootias esporádicas de diferente magnitud en Argentina, Brasil, Venezuela y Colombia, produciendo encefalitis con una tasa de mortalidad del 30 al 40% en humanos y del 80 al 90% en équidos (Go et al. 2014). Los mosquitos de los géneros *Culex* (*Melanoconion*), *Culiseta*, *Aedes* (*Ochlerotatus*) y *Coquillettidia* han sido postulados como vectores de los ciclos enzoóticos (Lehane 2005, Contigiani et al. 2016). El virus de la EEO se encuentra extendido por toda América del Sur, causando principalmente epizootias equinas. En el ser humano, el virus causa patologías que pueden ir desde lo asintomático o cuadros de gravedad moderada hasta formas graves de meningitis atípica y encefalitis. Durante el 2023, se detectaron brotes de EEO en el cono sur de América. En Argentina, se notificó a la OMS el primer caso humano confirmado en más de dos décadas, desde los últimos reportados en 1982-1983 y 1996. Además, se registraron aproximadamente 1.500 focos de casos equinos distribuidos en 17 provincias del país (Ayala et al. 2024, OMS 2024b). Uruguay también reportó un incremento de casos en equinos durante el mismo año (OMS 2024c). El virus de la EEO,

se mantiene en un ciclo enzoótico entre mosquitos del género *Culex* y *Aedes* y aves paseriformes. Sin embargo, mamíferos como murciélagos, lagomorfos y roedores, pueden desempeñar un papel importante como hospedadores de amplificación del virus en Sudamérica, mientras que los équidos y los humanos actúan como hospedadores terminales (Go et al. 2014, OMS 2024b). Históricamente, *Ae. albifasciatus* ha sido identificado como el principal vector en Argentina. El ciclo enzoótico del virus de la EEV involucra a mosquitos *Culex* (*Melanoconion*) y pequeños roedores como hospedadores, mientras que especies de los géneros *Aedes* y *Psorophora* participan en ciclos epidémicos y epizooticos. Los équidos pueden actuar como hospedadores amplificadores al desarrollar altos niveles de viremia, con una morbilidad del 40 al 60 % y una mortalidad del 50 % de los sintomáticos. En los humanos, la EEV generalmente produce síntomas leves, mientras que la infección en equinos puede ser grave (Weaver et al. 2004, Contigiani et al. 2016). El virus MAY fue aislado de humanos, primates silvestres y mosquitos en siete países de Sudamérica. Su ciclo selvático podría ser similar al de la FA, involucrando a primates silvestres como hospedadores y a mosquitos *Haemagogus* como vectores principales. Sin embargo, existe evidencia que mosquitos del género *Aedes* podrían estar involucrados en la transmisión del virus en ambientes urbanos y, en consecuencia, contribuir al establecimiento de brotes en regiones donde están presentes *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* (Kraemer et al. 2015). Los casos clínicos han presentado síntomas como artralgia, fiebre, dolor de cabeza y mialgia. Debido a que las manifestaciones clínicas son muy similares a las de otros arbovirus como DEN y CHIK, es probable que los casos del MAY sean subestimados debido a un diagnóstico erróneo en áreas donde otros arbovirus son endémicos. En Sudamérica, los casos reportados se registran en personas con antecedentes de actividad reciente en áreas selváticas (Wei et al. 2024)

En cuanto a los virus de la familia *Peribunyaviridae*, estos incluyen los virus Bunyamwera (BUN), Oropouche (ORO), Guaroa (GRO) y Cache Valley (CV). El virus BUN fue detectado en el continente en caballos y humanos, y se aisló de *Ae. albifasciatus*, *Psorophora varinervis*, *Culex intrincatus*, *Culex acharistus* y *Culex educator* (Tauro et al. 2015, Gallardo et al. 2019). Este virus ha sido asociado a síndrome febril, patologías nerviosas en humanos (encefalitis, meningitis) y defectos del sistema nervioso central. También, se ha asociado principalmente con la producción de enfermedades neurológicas, malformaciones congénitas nerviosas, abortos y muerte en animales domésticos y silvestres, principalmente en rumiantes (Contigiani et al. 2016). El virus del ORO es un arbovirus reemergente en las Américas, transmitido a los humanos principalmente a través de la picadura del jején *Culicoides paraensis* (CDC 2024). También ha sido aislado de algunas especies de mosquitos, e.g., *Cx. quinquefasciatus* (OMS 2024d), *Coquillettidia venezuelensis* y *Ae. serratus* (Vasconcelos et al. 2011). Se sospecha que la transmisión viral incluye tanto ciclos selváticos como urbanos. En el ciclo selvático, primates, perezosos y posiblemente algunas aves actúan como hospedadores, mientras

que, en el ciclo urbano, los humanos son el hospedador amplificador. Está asociado a importantes epidemias de enfermedad febril en la región amazónica de Brasil y Perú, y se considera una de las principales virosis emergentes en las áreas tropicales de Sudamérica. La alta prevalencia de anticuerpos detectados en habitantes de las zonas forestales y rurales del Amazonas sugiere una circulación endémica del virus. En el Amazonas brasileiro, el virus ORO es el segundo arbovirus más común después del virus del DEN (OMS 2024d). Respecto al virus GRO, fue aislado por primera vez en 1959 en Guaroa, Departamento Meta, Colombia, en personas sin signos de enfermedad. La mayor parte de los aislamientos han sido realizados a partir de *An. neivai*, especie implicada e incriminada como el principal vector en la naturaleza. Distintos estudios sugieren que GRO se encuentra distribuido en Brasil, Argentina, Perú y Colombia, donde se han detectado anticuerpos en humanos (Lee & Sanmartin 1967, Groseth et al. 2015). Otros virus relacionados que afectan a los humanos, como el virus CV, también se encontraron infectando a *Ae. albifasciatus* y *Ps. varinervis* (Sabattini et al. 1998, Tauro et al. 2009).

En cuanto a las filarias, el ejemplo más conocido de parásitos vertebrados es *Wuchereria bancrofti*, responsable de la filariasis linfática. En Sudamérica, sigue siendo endémica en Brasil y Guyana, y es principalmente transmitida por especies de *Anopheles* y *Cx. quinquefasciatus*; los humanos son los principales hospedadores (Lehane 2005, CDC 2019). Otra enfermedad filarial en el continente es la dirofilariasis, una zoonosis parasitaria causada por nematodos del género *Dirofilaria*, siendo *Dirofilaria immitis* la más relevante y ampliamente distribuida. Este parásito ha sido detectado en casi todos los países del continente, infecta animales domésticos y una amplia gama de animales silvestres (Anderson 2000, Vezzani & Eiras 2016). Un gran número de especies de los géneros *Aedes*, *Culex*, *Anopheles*, *Psorophora* y *Wyeomyia* han sido incriminadas como vectores en diferentes regiones del continente (Vezzani & Eiras 2016). En la tabla 2.1, se presenta un resumen de los mosquitos vectores asociados con patógenos de relevancia regional. Se incluyen detalles sobre la taxonomía de los agentes etiológicos, destacando las familias y géneros a los que pertenecen.

Tabla 2.1 Mosquitos vectores asociados con patógenos de relevancia médica y veterinaria en Sudamérica.

Patógeno	Enfermedad (abreviación)	Taxonomía del agente etiológico (Familia / Género)	Vector incriminado
Protozoos	Malaria	Plasmodiidae / <i>Plasmodium</i>	<i>Anopheles</i> spp.
Virus	Dengue (DEN)	Flaviviridae / Flavivirus	<i>Ae. aegypti</i> <i>Ae. albopictus</i>
Virus	Zika (ZIK)	Flaviviridae / Flavivirus	<i>Ae. aegypti</i> <i>Ae. albopictus</i>
Virus	Fiebre amarilla (FA)	Flaviviridae / Flavivirus	<i>Hg. janthinomys</i> <i>Hg. leucocelaenus</i> <i>Ae. aegypti</i>
Virus	Chikungunya (CHIK)	Togaviridae / Alphavirus	<i>Ae. aegypti</i> <i>Ae. albopictus</i>
Virus	Nilo Occidental (NO)	Flaviviridae / Flavivirus	<i>Culex</i> spp.
Virus	Encefalitis de Saint Louis (ESL)	Flaviviridae / Flavivirus	<i>Culex</i> spp.
Virus	Rocio (ROC)	Flaviviridae / Flavivirus	Incriminadas por infección silvestre <i>Ps. ferox</i> <i>Ae. scapularis</i> <i>Cq. chrysonotum</i> <i>Ma. indubitans</i>
Virus	Encefalitis Equina del Este (EEE)	Togaviridae / Alphavirus	<i>Culex (Melanoconion)</i> spp. <i>Culiseta</i> spp. <i>Aedes (Ochlerotatus)</i> spp. <i>Coquillettidia</i> spp.
Virus	Encefalitis Equina del Oeste (EEO)	Togaviridae / Alphavirus	<i>Culex</i> spp. <i>Aedes</i> spp.

(Continuación Tabla 2.1)

Patógeno	Enfermedad (abreviación)	Taxonomía del agente etiológico (Familia / Género)	Vector incriminado en la región
Virus	Encefalitis Equina venezolana (EEV)	Togaviridae / Alphavirus	<i>Culex (Melanoconion) spp.</i> <i>Aedes spp.</i> <i>Psorophora spp.</i>
Virus	Mayaro (MAY).	Togaviridae / Alphavirus	<i>Haemagogus spp.</i>
Virus	Bunyamwera (BUN)	Peribunyaviridae / Bunyavirus	<i>Aedes spp.</i> <i>Psorophora spp.</i> <i>Culex spp.</i>
Virus	Oropouche (ORO)	Peribunyaviridae / Bunyavirus	<i>Culicoides paraensis</i>
Virus	Guaroa (GRO)	Peribunyaviridae / Bunyavirus	<i>An. neivai</i>
Virus	Cache Valley (CV)	Peribunyaviridae / Bunyavirus	Incriminadas por infección silvestre <i>Aedes spp.</i> <i>Anopheles spp.</i> <i>Culex spp.</i> <i>Coquillettidia spp.</i> <i>Culiseta spp.</i> <i>Psorophora spp.</i>
Nematodos	Filariasis linfática	Filaridae / <i>Wuchereria</i>	<i>Cx. quinquefasciatus</i> <i>Anopheles spp.</i>
Nematodos	Dirofilariasis	Onchocercidae / <i>Dirofilaria</i>	<i>Aedes spp.</i> <i>Culex spp.</i> <i>Anopheles spp.</i> <i>Psorophora spp.</i> <i>Wyeomyia spp.</i>

Desde principios del siglo XX, los investigadores han intentado caracterizar la preferencia del hospedador e identificar las ingestas de sangre de los mosquitos mediante diferentes técnicas, cuyos hallazgos han sido recopilados en varias revisiones. Tempelis (1975) propuso nueve patrones de alimentación y recopiló diversas técnicas de análisis de ingestas sanguíneas a través de serología. Ocho años más tarde, Washino & Tempelis (1983) resumieron el estado de los estudios sobre la identificación de las ingestas sanguíneas, abarcando tanto enfoques serológicos como no serológicos, y actualizaron el trabajo publicado desde 1975. Pasaron más de dos décadas hasta que Lyimo & Ferguson (2009) revisaron los determinantes ecológicos y evolutivos de la elección de hospedadores en mosquitos y otros vectores **de enfermedades humanas**. Posteriormente, un trabajo exhaustivo realizado por Takken & Verhulst (2013) se centró en el conocimiento disponible sobre los patrones de alimentación a nivel mundial, con un enfoque en los factores intrínsecos y extrínsecos que los modulan. En esta misma línea, Tung & Fonseca (2024) proporcionan información sobre cómo los factores internos y externos interactúan para generar un comportamiento dinámico en la alimentación sanguínea de los mosquitos. Revisiones adicionales se han enfocado en áreas geográficas o especies específicas; por ejemplo, Stephenson et al. (2019) compilaron estudios sobre la alimentación de mosquitos en Australia, mientras que Cebrián-Camisón et al. (2020) abordaron las especies **invasores** de *Aedes* en Europa. Más recientemente, Bursaly & Touray (2024) revisaron las complejidades de los patrones de alimentación sanguínea de mosquitos y flebótomos, profundizando en cómo la fuente sanguínea influye en la transmisión de patógenos. Aunque se ha realizado un trabajo prolífico sobre los aspectos evolutivos de los patrones de alimentación sanguínea y estudios específicos por especies en otros continentes, aún se conoce relativamente poco sobre los patrones de ingesta sanguínea de los mosquitos en Sudamérica. Aunque se ha realizado un trabajo prolífico sobre los aspectos evolutivos de los patrones de alimentación sanguínea y estudios específicos por especies en otros continentes, aún se conoce relativamente poco sobre los patrones de ingesta sanguínea de los mosquitos en Sudamérica.

El objetivo de este capítulo es establecer una línea de base del estado de conocimiento de los patrones de ingesta sanguínea de mosquitos en Sudamérica. Para ello, se llevaron a cabo dos revisiones exhaustivas; la primera abarcó hasta finales del 2020, con el fin de compilar y analizar la información disponible sobre dicha temática para Sudamérica, en particular en Argentina, antes de dar inicio al trabajo de campo. La segunda revisión consistió en una actualización de nuevas investigaciones realizadas entre 2021 y septiembre de 2024 durante la finalización de la Tesis.

2.1 MATERIALES Y MÉTODOS

2.1.1 Recopilación de datos

La búsqueda bibliográfica incluyó artículos de investigación y tesis en Web of Science, Scopus, PubMed, Scielo, Google Scholar, Research Gate y la Red de Repositorios Latinoamericanos utilizando los siguientes términos de búsqueda: South America, bloodmeal, blood meal, bloodmeal identification, bloodmeal mosquitoes, culicidae, host, host feeding, host feeding patterns, host-mosquito, host preference, host selection, mosquitoes, mosquito feeding, vector, vector-host, sus equivalentes en español y portugués, y el nombre científico de los mosquitos reconocidos como vectores (e.g. *Aedes aegypti*). Las listas de referencias de todos los artículos recopilados también fueron examinadas para identificar cualquier otro documento relevante.

De cada estudio registrado en la primera revisión (hasta diciembre 2020), se extrajo la siguiente información: país, tipo de estudio, número de individuos analizados para cada especie de mosquito e identificación del hospedador (en adelante ID) hasta el máximo detalle taxonómico disponible. Para los estudios incluidos en la actualización al 2024, se registraron solo el país y la metodología utilizada en el estudio. En ambos casos, los estudios se clasificaron como: cebo humano como método de colecta, ID por especímenes colectados en trampas con cebo animal (ya sea con o sin ingesta sanguínea) e identificación de la ingesta de sangre por técnicas serológicas o moleculares, incluyendo detalles sobre la estimación de la disponibilidad del hospedador, si se informó al respecto. Se incluyeron estudios que utilizaron cebo humano como método de colecta dado que brindan información valiosa sobre las especies antropofílicas, particularmente en países que carecen de estudios específicos.

La distribución geográfica de las especies de mosquitos en Sudamérica fue incorporada al conjunto de datos mediante la extracción de registros de la Walter Reed Biosystematic Unit (WRBU 2021), con la excepción de Argentina, para la cual se utilizó una lista de verificación más detallada elaborada por Rossi (2015) y actualizada por Stein et al. (2018). Además, se agregó una especie para un país determinado si un estudio la mencionaba entre los especímenes colectados, e.g., *An. albitarsis* en Guyana (Giglioli 1963), *Culex eduardoi* en Brasil (Barbosa et al. 2003) y *Uranotaenia pallidoventer* en Bolivia (Roberts et al. 1985).

El patrón de alimentación sanguínea de cada especie de mosquito se categorizó a partir de un análisis exhaustivo de la información recopilada en la primera revisión. Un primer enfoque cualitativo amplio proporcionó la lista de hospedadores para cada especie de mosquito, categorizada como humanos, otros mamíferos, aves, reptiles, anfibios y sus combinaciones. Luego, se realizó una evaluación

detallada para aquellas especies de mosquitos mejor representadas en términos de número de individuos y publicaciones. Finalmente, se llevó a cabo una interpretación adicional utilizando exclusivamente aquellos trabajos que consideraron la disponibilidad de hospedadores.

Respecto al detalle taxonómico de las especies de mosquitos, se incluyó toda la información, incluso si se reportaba como un grupo de especies, a nivel de género o subgénero. En situaciones de falta de información a nivel de especie, como en el caso de *Culex (Microculex)*, los datos de alimentación de hospedadores a nivel subgénero podrían proporcionar pistas valiosas. Los taxones registrados a nivel de género o subgénero no se consideraron en los análisis relacionados con el número de especies. En el caso de los grupos de especies, se sumaron al número total de especies solo si no se disponía de información **disponible** sobre los miembros individuales del grupo. Para aquellos estudios que no incluían el número de especímenes analizados, la identificación del hospedador se consideró únicamente de manera cualitativa.

2.2 RESULTADOS

2.2.1 Revisión bibliográfica hasta fines del 2020

Se registraron un total de 147 artículos científicos, una tesis doctoral y cuatro tesis de maestría que reportan información sobre diversos aspectos de los patrones de alimentación de mosquitos en diez de los 13 países de Sudamérica, desde 1928 hasta 2020 (Figura 2.1, Anexo 2.1). La información recopilada presenta un notable desequilibrio entre los países, tanto en la cantidad de investigaciones como en las especies involucradas. La gran mayoría de los estudios se realizaron en Brasil (76), seguido por Colombia (22) y Perú (16). Hasta donde sabemos, no hay información disponible para Chile, Paraguay y Uruguay. De la bibliografía recopilada, 122 investigaciones se centraron en una o varias **enfermedades transmitidas** por mosquitos. La malaria fue por mucho el objetivo más común de las investigaciones (99), seguida de ESL y/o NO y/o FA (7), EEV/dirofilariasis canina (6), EEO (4), y EEE/ROC/malaria aviar/filariasis linfática (2). Durante el siglo pasado, todos los estudios se basaron en colectas con cebo humano, trampas con cebo o identificación de sangre por métodos serológicos, y no fue hasta 2009 que aparecieron estudios utilizando herramientas moleculares (Figura 2.2).

El estado de alimentación de los mosquitos recolectados en trampas cebadas fue considerado únicamente en cuatro estudios (Mitchell et al. 1985, 1987, Almirón & Brewer 1995, Stein et al. 2013).

Podría suponerse que los mosquitos recién alimentados (es decir, aquellos que contenían sangre roja en su abdomen) picaron al vertebrado utilizado como cebo, mientras que los mosquitos no alimentados (sin sangre en su abdomen) pueden haber sido atraídos únicamente por el dispositivo de la trampa en sí o por el vertebrado presente en este. Independientemente del animal utilizado como cebo en estos estudios (caballo, pollo, conejo, sapo y tortuga), los autores encontraron que las tasas de alimentación varían entre cebos dependiendo de la especie de mosquito, lo que sugiere diferencias importantes en la interpretación de los datos entre los mosquitos atraídos y los alimentados.

En las investigaciones con trampas cebadas e identificación de la ingesta sanguínea, la evaluación de las variaciones estacionales e interanuales de los patrones de alimentación está casi ausente. Sólo Stein et al. (2013) incluyeron un diseño de estudio que permitió la detección de cambios en la preferencia de hospedador de un ensamble de mosquitos entre estaciones. De manera similar, sólo Moreno et al. (2017) compararon los cambios interanuales de la elección del hospedador y destacaron las variaciones estacionales del HBI, proporcionando datos valiosos sobre los cambios estacionales de los patrones de alimentación en humanos. Otros enfoques incluyeron la comparación entre intradomicilio versus peridomicilio (35 investigaciones), así como el análisis de diferentes tipos de ambientes, como, urbano/rural/silvestre (19).

De las 246 especies de mosquitos con información disponible, 172 fueron estudiadas formalmente mediante trampas con cebo o identificación de la ingesta sanguínea y, para las 74 especies restantes, los datos se restringen a cebo humano (Anexo 2.2). La mayoría de las especies sólo se estudiaron en uno o dos países y muy pocas han sido investigadas a lo largo del continente (Figura 2.3A). Del mismo modo, considerando sus distribuciones geográficas (ver Anexo 2.2 columnas B y C), la mayoría de las especies fueron investigadas en hasta 1/3 de su rango de distribución (Figura 2.3B). En términos generales, la mayoría de las especies fueron involucradas en sólo una a tres investigaciones y pocas fueron estudiadas en profundidad (Figura 2.3C). Las especies más frecuentemente estudiadas (> 30 publicaciones) pertenecen al género *Anopheles*. Sorprendentemente, otros vectores relevantes como *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* y *Hg. janthinomys* fueron escasamente estudiados, y muchas especies sospechosas de ser vectores de enfermedades poco conocidas apenas fueron involucradas en una investigación, e.g., *Cx. acharistus* y *Cx. educator*. En resumen, el 59,6% de las especies fueron estudiadas sólo en un país, el 64,6% fueron investigadas en un rango estrecho de sus distribuciones, y el 34,6% estuvieron involucradas en una sola investigación.

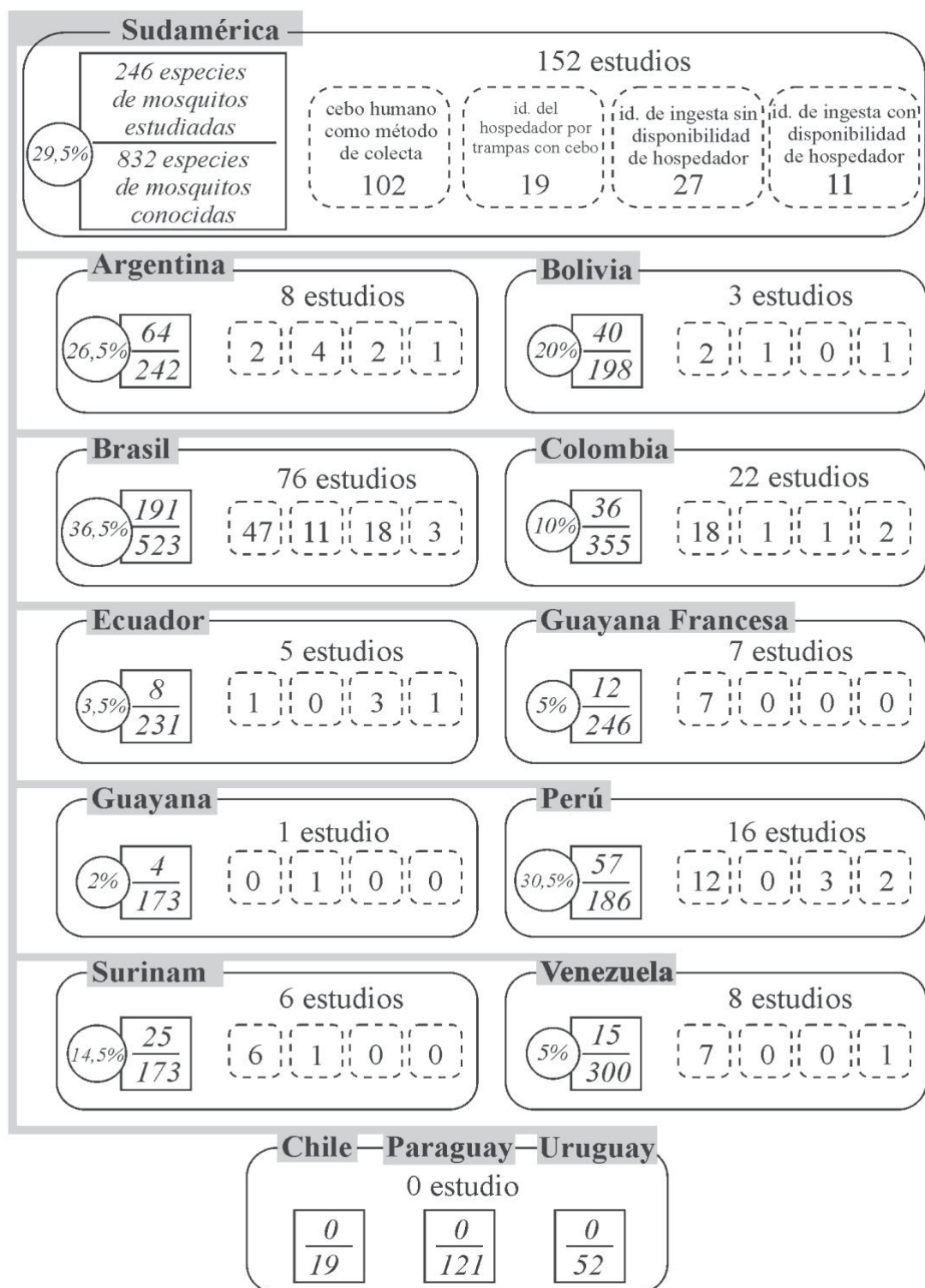


Figura 2.1 Estudios científicos disponibles relacionados con los patrones de ingesta sanguínea de mosquitos en Sudamérica hasta finales de 2020; número de investigaciones por tipo de estudio dentro de recuadros punteados y porcentaje de especies de mosquitos estudiadas dentro de círculos.

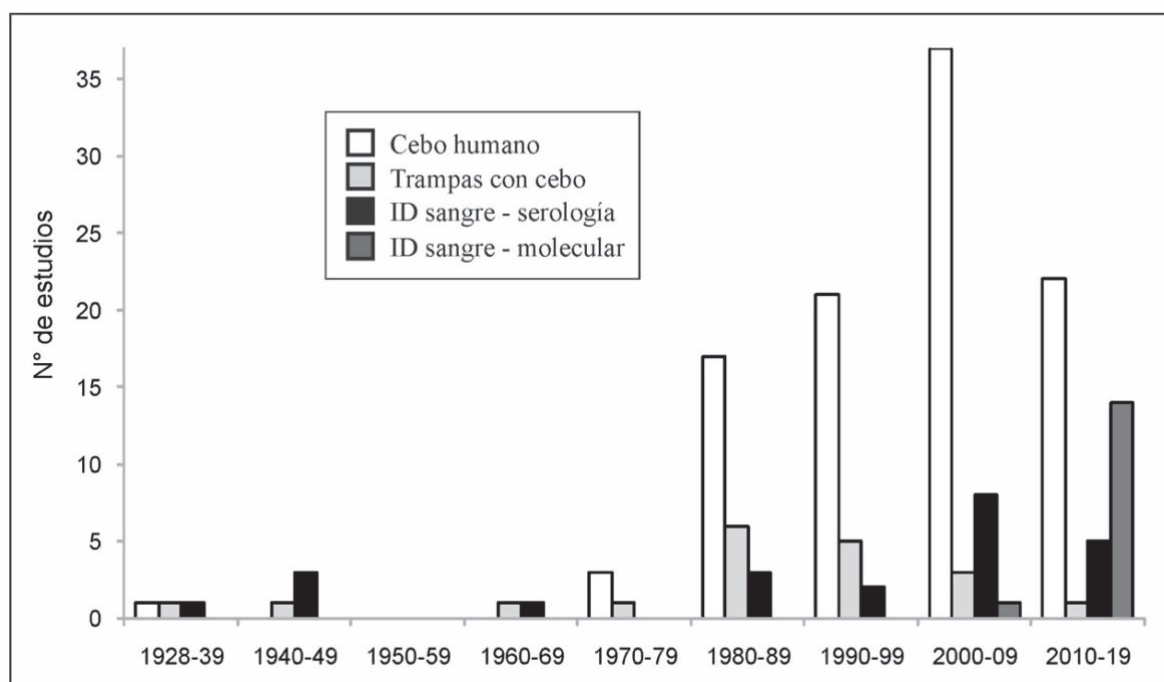


Figura 2.2 Número de estudios por década relacionados con los patrones de ingesta sanguínea de mosquitos en Sudamérica hasta finales de 2020, clasificados por tipo de estudio.

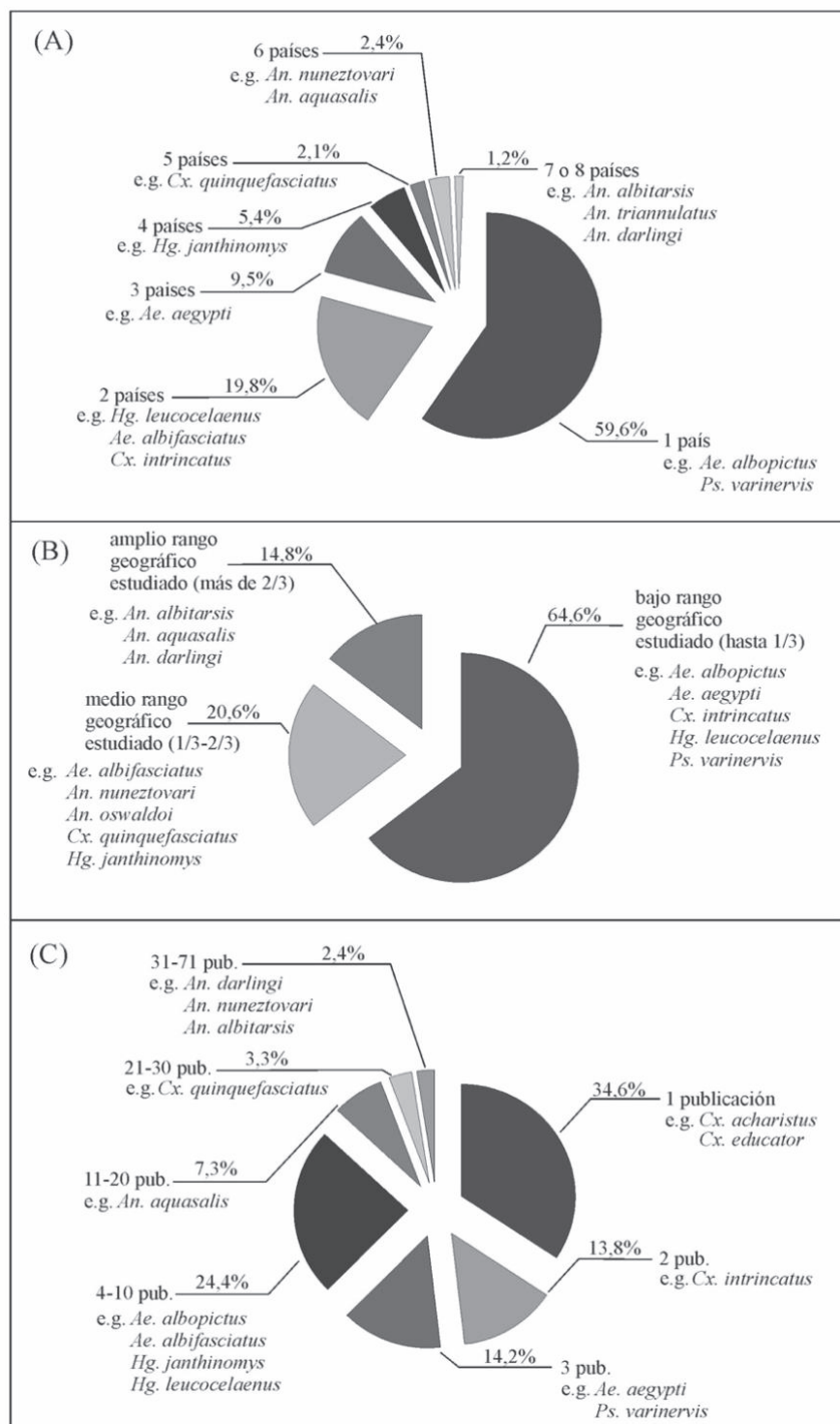


Figura 2.3 Porcentaje de especies de mosquitos cuyos patrones de ingesta sanguínea en Sudamérica han sido estudiados hasta finales de 2020 según A) el número de países, B) la proporción de su rango geográfico y C) el número de publicaciones en las que fueron investigadas. Todos los porcentajes se calcularon sobre el total de especies de mosquitos con información disponible en el continente (i.e. 246).

El conjunto de datos agrupados sumó más de 1.6 millones de mosquitos; 1.518.730 en colectas por cebo humano, 144.779 en trampas con cebo y 24.904 en mosquitos colectados en el campo para la identificación de la ingesta sanguínea. Como era de esperar, el número total de ejemplares por especie también estuvo desbalanceado. Las especies del género *Anopheles* que fueron objeto de más investigaciones también fueron las mejor representadas en términos de número de individuos, con cuatro especies que representaron el 73% del total. En el otro extremo, algunas especies como *Culex lopesi* y *Uranotaenia nataliae* solo contaron con un espécimen analizado (Anexo 2.2).

Finalmente, en 11 estudios realizaron una evaluación de la disponibilidad de hospedadores para estimar las preferencias de hospedadores vertebrados de los mosquitos en condiciones de campo (Anexo 2.3). Diez de estos estudios cuantificaron la disponibilidad de hospedadores en los sitios de colecta de mosquitos, mediante una o una combinación de las siguientes herramientas: censo de individuos que proporcionan conteos absolutos (e.g. Gomes et al. 2003, Bataille et al. 2012), muestreo visual y/o auditivo de especies de aves (e.g. Mendenhall et al. 2012, Hoyos 2018), encuestas a residentes (e.g. Rubio-Palis et al. 1994), y fuentes bibliográficas o bases de datos disponibles para el área (e.g. Alencar et al. 2005). La información obtenida se utilizó considerando el número bruto de individuos (en la mayoría de los estudios) o estandarizada por peso del animal (e.g. Lardeux et al. 2007, Saavedra et al. 2019). Las métricas más utilizadas fueron el índice de alimentación y la proporción de alimentación (FR), mientras que, un estudio empleó redes de interacción de especies (Hoyos 2018). Por otra parte, un estudio fijó la disponibilidad de hospedadores en un diseño experimental ofreciendo simultáneamente un individuo de humano, perro, gato, cerdo, carnero, toro, caballo y pollo, y luego se analizó la sangre ingerida por los mosquitos mediante la técnica de precipitina (Deane et al. 1949).

2.2.2 Patrones de alimentación sanguínea de especies de mosquitos en Sudamérica

El Anexo 2.2 detalla los hallazgos sobre los patrones de alimentación sanguínea para todas las especies de mosquitos estudiadas, considerando todas las investigaciones y técnicas. Al menos 223 especies podrían describirse como antropofílicas, ya que fueron colectadas mediante cebo humano, ya sea como parte de experimentos con trampas con cebo o para otros propósitos de investigación. Otras cuatro especies se agregaron a la lista de especies antropofílicas mediante la identificación de la ingesta sanguínea de especímenes colectados en campo. Entre estas 227 especies, el 56,9 % también fueron atraídas por, y/o se alimentaron de, otros mamíferos, aves, reptiles y anfibios (Figura 2.4A, columna J en el Anexo 2.2). Algunas de estas especies (6,1%) son claramente generalistas, alimentándose de todos los taxones vertebrados considerados, mientras que otras

(15,1%) se alimentan exclusivamente de mamíferos no humanos. Este primer enfoque, aunque sesgado por las colectas de cebo humano, proporciona candidatos que podrían actuar como vectores puente de enfermedades zoonóticas que involucren a aves y/o mamíferos, así como vectores en los ciclos de mantenimiento selváticos. Igualmente importante, estos resultados destacan la falta de datos sobre supuestos vectores de algunas enfermedades; e.g., *Ae. aegypti* solo fue registrado alimentándose de humanos, a pesar de que se le ha incriminado en la transmisión del gusano del corazón del perro, *D. immitis* (Vezzani & Eiras 2016).

Los datos del subconjunto de 19 investigaciones que utilizaron trampas con cebo incluyen 143 especies de mosquitos, de las cuales el 83,9% fueron atraídas por humanos, el 10,5% exclusivamente y el 73,4% en combinación con otros hospedadores (Figura 2.4B; columna K en el Anexo 2.2). El 16,1% de especies restantes fueron atraídas por otros mamíferos (9,1%), aves (0,7%), ambos (4,9%) o en combinación con reptiles y anfibios (1,4%). Esta información está sesgada por la elección de los taxones vertebrados utilizados como cebo, dependiendo del objetivo de cada estudio; e.g., cinco especies de mosquitos fueron atraídas por reptiles y/o anfibios cuando se les ofrecieron, pero este enfoque sólo fue utilizado por Almirón & Brewer (1995). En cualquier caso, estas publicaciones aportan información valiosa sobre la elección de hospedadores entre humanos-aves-otros mamíferos. Sin embargo, como se discutirá en el siguiente párrafo, los patrones de alimentación en condiciones naturales no necesariamente se asemejan a los experimentos de campo realizados con trampas cebadas.

Las 38 investigaciones centradas en la identificación de la ingesta sanguínea de especímenes colectados en campo proporcionan datos sobre 102 especies de mosquitos. El 60,8% de estas especies se alimentó de humanos; 4,9% de forma exclusiva y 55,9% en combinación con otros hospedadores (Figura 2.4C; columna L en el Anexo 2.2). A diferencia de los hallazgos observados en las trampas con cebo, varias especies de mosquitos (12,7%) incluyeron en su alimentación todos los taxones de vertebrados (excepto peces) además de humanos. Un alto porcentaje de las especies (39,2%) se encontraron exclusivamente con ingestas no humanas; 10,8% exclusivamente aves y 13,7% exclusivamente mamíferos, 9,8% se alimentó de ambos y el 4,9% restante incluyó también reptiles y/o anfibios.

La comparación de los resultados entre los estudios que utilizan trampas con cebo y los que identifican la ingesta sanguínea de mosquitos colectados en campo muestra que el porcentaje de especies de mosquitos identificadas como antropofílicas (exclusivamente o no) es mayor en las trampas con cebo, mientras que la identificación de reptiles, anfibios y otras categorías de hospedadores no humanos es mayor en el segundo (Figura 2.4B versus 2.4C). Entre las 73 especies de mosquitos evaluadas por

ambos métodos, sólo 17 arrojaron resultados similares (Anexo 2.2, columnas K y L). En los otros casos, cada método aportó especies de hospedadores adicionales a la lista general de hospedadores. Por ejemplo, las trampas con cebo añadieron humanos/reptiles/anfibios como hospedadores para *Ae. albifasciatus* y humanos junto a otros mamíferos para *Cx. intrincatus*, mientras que la identificación de la ingesta sanguínea incorporó aves como hospedadores para *Ae. albopictus* y *An. darlingi*. En general, las trampas con cebo adicionaron humanos (para 17 especies), mientras que la identificación de la ingesta de sangre agregó aves, reptiles y anfibios (para 26 especies) a la lista de hospedadores. Cabe destacar la importancia de las colectas con cebo humano en la elaboración de la lista de mosquitos antropofílicos, i.e., los datos sobre hospedador humano provienen exclusivamente de esta fuente bibliográfica para 93 especies de mosquitos.

La información detallada sobre el número de individuos procesados en trampas con cebo y estudios de identificación de la ingesta sanguínea de mosquitos colectados en campo para cada especie de mosquito (Anexo 2.2, columnas F–H) permite realizar una evaluación cuantitativa para varias especies, algunas de las cuales son reconocidas como vectores de importancia sanitaria. Se ejemplifica los cambios de los patrones observados entre las trampas con cebo y la colecta de mosquitos en campo para algunas especies bien representadas de *Anopheles*, *Aedes*, *Culex* y *Mansonia* (Figuras 2.5 y 2.6). Para todas las especies se observó un patrón diferente en términos de composición y proporciones de hospedadores. Además, se presenta un ejemplo de una especie de cada uno de los géneros *Psorophora*, *Wyeomyia* y *Limatus* estudiada únicamente mediante trampas con cebo (Figura 2.7). En todos los casos, los mosquitos fueron atraídos por humanos, otros mamíferos y aves, destacando su rol potencial como vectores puente de enfermedades.

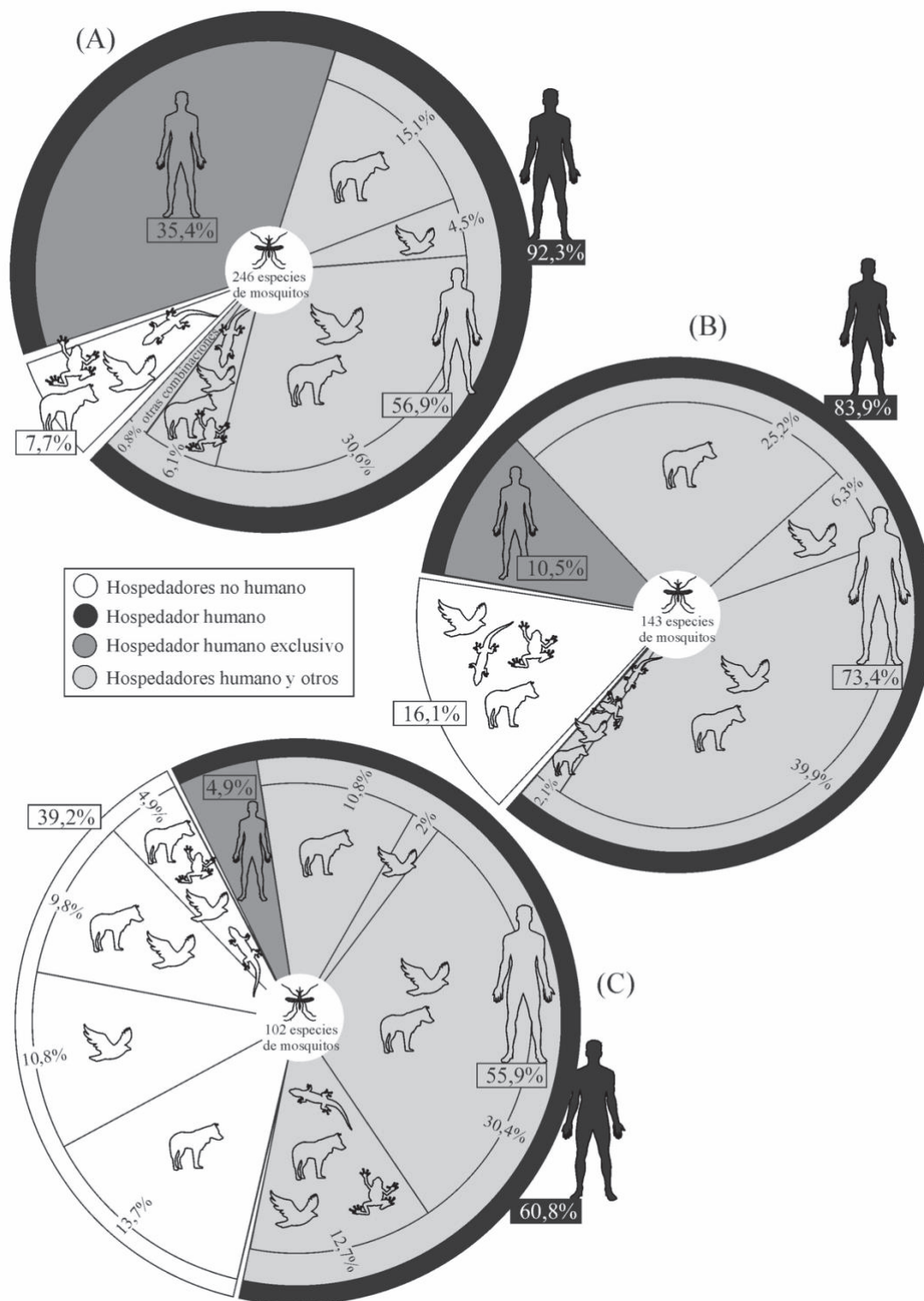


Figura 2.4 Patrones de ingesta sanguínea de especies de mosquitos en Sudamérica considerando los datos agrupados hasta finales de 2020 según (A) colectas con cebo humano, trampas con cebo animal y análisis de sangre de mosquitos recolectados en campo (246 especies); (B) solo trampas con cebo (143 especies), y (C) solo análisis de la ingesta sanguínea de mosquitos recolectados en campo (102 especies).

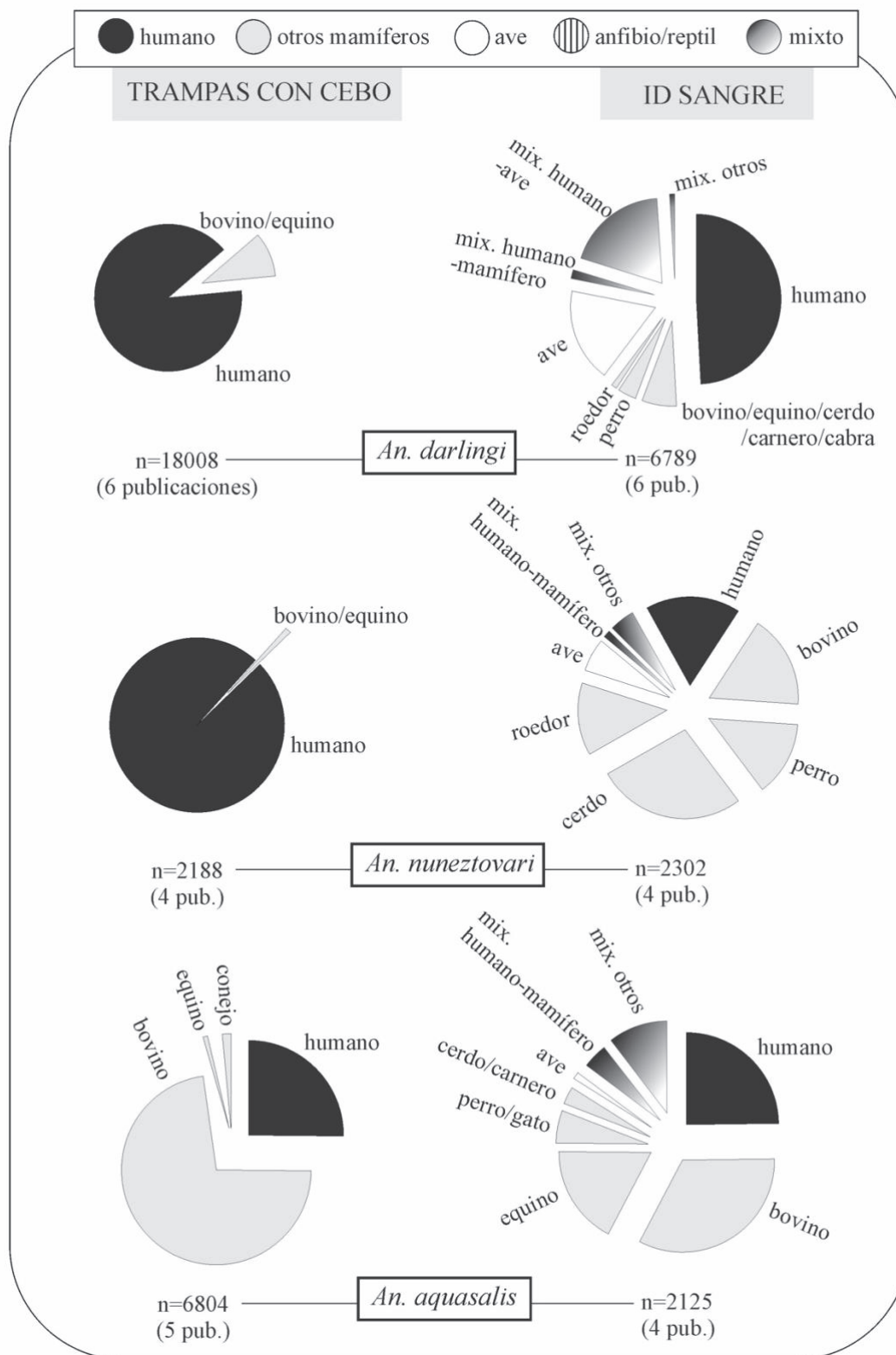


Figura 2.5 Comparación de la composición de hospedadores y proporciones observadas en trampas con cebo e identificación de la ingesta sanguínea para *An. darlingi*, *An. nuneztovari* y *An. aquasalis*. Información recopilada hasta finales de 2020.

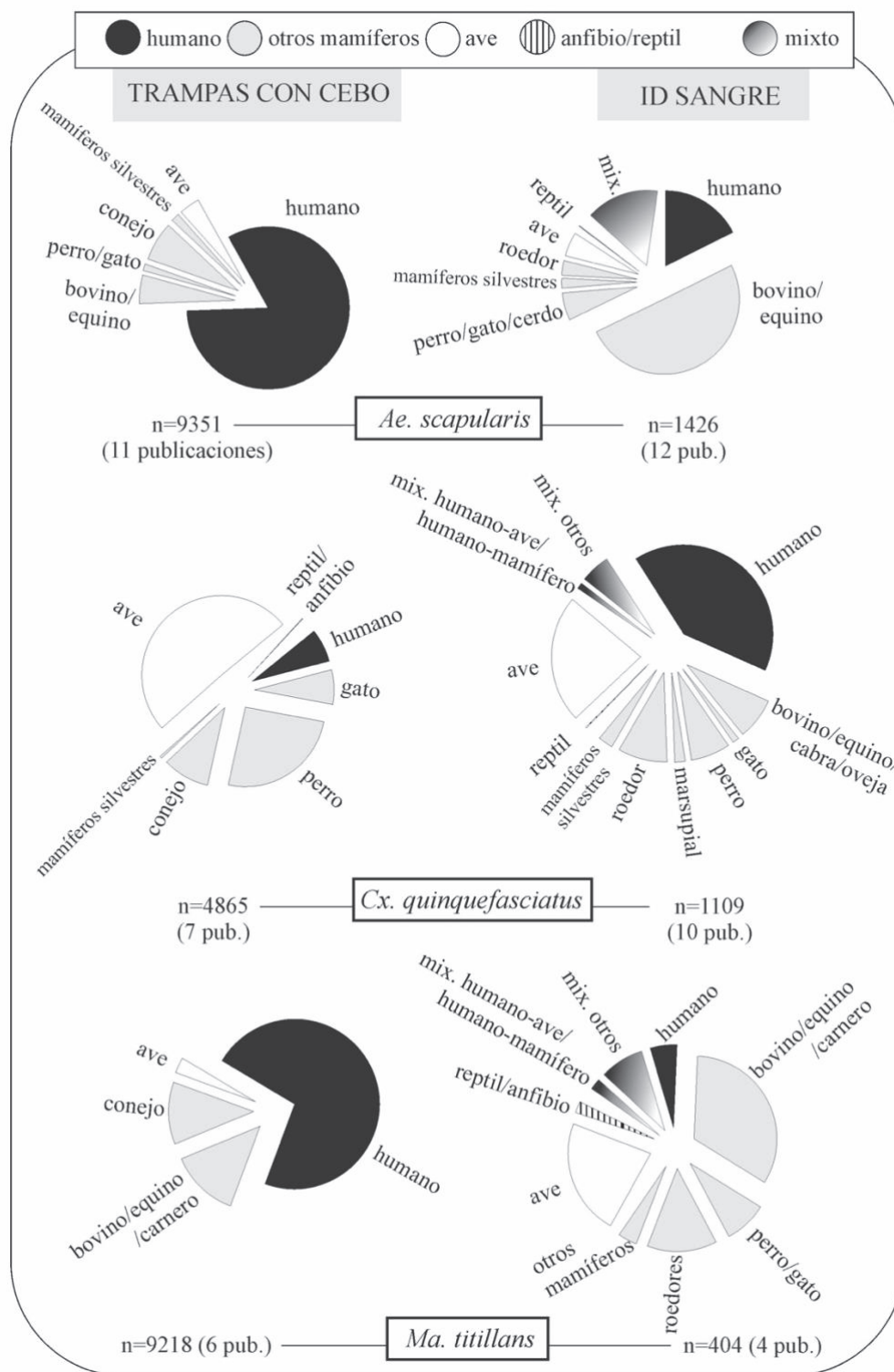


Figura 2.6 Comparación de la composición de hospedadores y proporciones observadas en trampas con cebo e identificación de la ingesta sanguínea de hembras colectadas en campo para *Ae. scapularis*, *Cx. quinquefasciatus* y *Ma. titillans*. Información recopilada hasta finales de 2020.

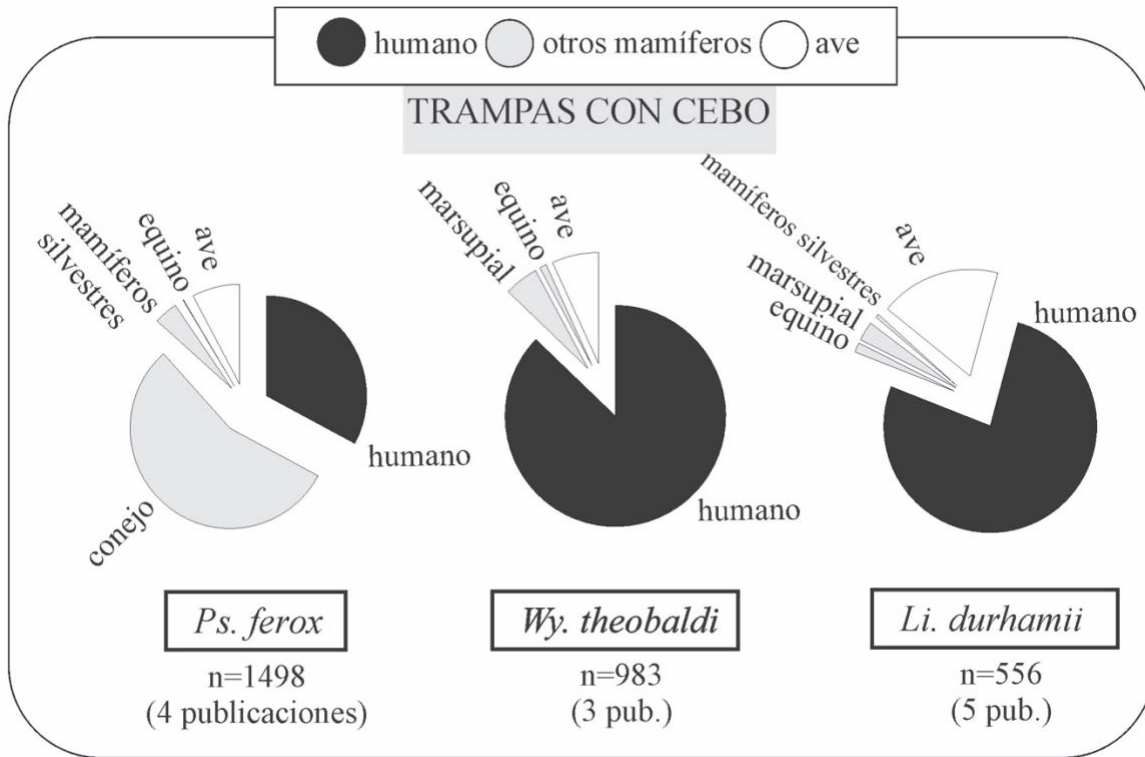


Figura 2.7 Composición de hospedadores y proporciones observadas en trampas con cebo para *Ps. ferox*, *Wy. theobaldi* y *Li. durhamii*. Información recopilada hasta finales de 2020.

Los 11 estudios que evaluaron la disponibilidad de hospedadores proporcionaron información sobre la preferencia alimentaria en condiciones de campo para 31 especies de mosquitos (Anexo 2.3). Más del 80% correspondió a individuos de nueve especies del género *Anopheles*, siendo *An. darlingi* la que representó la mayoría de los individuos, seguida por *An. aquasalis*. Aproximadamente la mitad de las especies, que abarcan todos los géneros considerados, fueron clasificadas como mamofílicas, incluido el ser humano como hospedador. De las restantes, diez fueron clasificadas como oportunistas, alimentándose en la mayoría de los casos de mamíferos y aves, y solo dos especies de *Culex* fueron ornitofílicas. Cabe destacar la investigación sobre *Uranotaenia lowii*, que se alimenta preferentemente de anfibios (Forattini et al. 1987). Para *Culex nigripalpus*, los resultados de dos estudios brasileños fueron discrepantes, considerándolo oportunista (Gomes et al. 2003) o mamofílico, incluido el humano (Alencar et al. 2005). Las preferencias de hospedadores de las otras cinco especies que fueron reportadas en más de un estudio fueron concordantes. Para algunas especies estudiadas únicamente en Hoyos (2018), la preferencia de hospedador reportada sería inconclusa debido al bajo número de especímenes analizados ($n < 6$).

Finalmente, la comparación de los datos agrupados extraídos del Anexo 2.2 y las preferencias de los hospedadores del Anexo 2.3 resalta la importancia de evaluar cuidadosamente qué información proporciona cada tipo de investigación. Por ejemplo, especies identificadas como mamofílicas como *Ae. albopictus*, *An. albitalis*, *Cx. quinquefasciatus* y *Mansonia titillans*, también se alimentaron de aves, mientras que mosquitos ornitofílicos como *Culex saltanensis* también se alimentaron de mamíferos. El rol de cada mosquito vector en la transmisión de una enfermedad dependerá tanto de su preferencia alimentaria intrínseca como de la disponibilidad de sus hospedadores potenciales en un lugar y tiempo determinados.

2.2.3 Actualización bibliográfica 2021 – 2024

En la sucesiva actualización bibliográfica, se encontraron un total de 20 artículos científicos que reportan nueva información sobre diversos aspectos de los patrones de ingesta sanguínea en cinco de los trece países de Sudamérica (Tabla 2.2). De manera similar a la revisión bibliográfica hasta el 2020, la información **recopilada** presenta un notable desequilibrio entre los países. La gran mayoría de los estudios se realizaron nuevamente en Brasil (11), seguido por Perú (4), Argentina (2), Colombia (2) y Guayana Francesa (1). Para Bolivia, Ecuador, Guyana, Suriname y Venezuela no se registró información disponible durante estos últimos años. Hasta donde sabemos, aún no se dispone de información sobre los patrones de ingesta sanguínea de mosquitos en Chile, Paraguay y Uruguay. De los 20 estudios registrados, 11 utilizaron colectas con cebo humano, contribuyendo exclusivamente a la identificación de especies antropofílicas y utilizando este método como recurso para otros objetivos de investigación. La identificación del hospedador a través de trampas cebadas se utilizó en un estudio realizado por Farnesi et al. (2021). Allí, utilizaron humano, cobayo y ratón como fuente de alimento para *Ae. aegypti*. Los autores observaron que, el número promedio de huevos y la viabilidad de huevos fueron similares, independientemente del animal utilizado como cebo. Finalmente, en 8 estudios identificaron la ingesta sanguínea mediante especímenes colectados en campo a través de herramientas moleculares. De estos últimos, seis realizaron una evaluación de la disponibilidad de hospedadores en condiciones de campo. Sólo un estudio utilizó simultáneamente dos enfoques; Piedrahita et al. (2022) colectó mosquitos por cebo humano y también identificó la fuente de ingesta sanguínea de hembras colectadas en campo a través de herramientas moleculares (Tabla 2.2).

Tabla 2.2 Estudios realizados sobre la ingesta sanguínea de mosquitos en cada país de Sudamérica (2021-2024); referencias entre [corchetes].

País	No. de publicaciones 2021 - 2024	Cebo humano como método de colecta	Identificación del hospedador por trampas con cebo	No. de publicaciones por tipo de estudio	
				Identificación de la ingesta sanguínea de mosquitos colectados en campo	
				Con disponibilidad de hospedador	Sin disponibilidad de hospedador
Argentina*	2	0	0	Serología. 0 Molecular 2 [Cardo et al. 2023; Cardo & Vezzani 2023]	0
Brasil	11	6 [Andrade et al. 2021; Chaves et al. 2021; Oliveira et al. 2021; Pereira-Silva et al. 2021; Alvarez et al. 2022; Galardo et al. 2022]	1 [Farnesi et al. 2021]	Ser. 0 Mol. 1 [Nagaki et al. 2021]	Ser. 0 Mol. 3 [Guimarães et al. 2021; Alonso et al. 2023; Mirza et al. 2024]
Colombia	2	1 [Piedrahita et al. 2022]	0	Ser. 0 Mol. 2 [Hoyos et al. 2021**; Piedrahita et al. 2022]	0
Guayana Francesa	1	0	0	Ser. 0 Mol. 1 [Guidez et al. 2024]	0
Perú	4	4 [Viteri et al. 2021; Conn et al. 2023; Bickersmith et al. 2024; Requena-Zúñiga et al. 2024]	0	0	0
Bolivia	0	0	0	0	0
Chile	0	0	0	0	0
Ecuador	0	0	0	0	0
Guyana	0	0	0	0	0
Paraguay	0	0	0	0	0
Suriname	0	0	0	0	0
Uruguay	0	0	0	0	0
Venezuela	0	0	0	0	0
Total	20	11	1	6	3

*Lista de especies de mosquitos actualizada, incluyendo nuevos registros para la Argentina (Stein et al. 2018).

**Citada en la primera revisión como Hoyos 2018, tesis de maestría. Recientemente, se publicaron los datos e información actualizada, Hoyos et al. 2021.

2.3 DISCUSIÓN

En Sudamérica, se carece de información sobre los patrones de ingesta sanguínea de más del 70% de las especies de mosquitos, y la mayoría de las especies restantes han sido investigadas en un rango limitado de su distribución geográfica. El género *Anopheles* fue el más estudiado en términos de publicaciones, número de individuos y alcance geográfico. Entre los vacíos destacables se encuentra la poca información sobre reconocidos vectores de enfermedades como *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* y también sobre especies consideradas responsables de los ciclos selváticos del virus de la fiebre amarilla, como aquellas de los géneros *Haemagogus* y *Sabethes*.

Más allá del destacado liderazgo de Brasil, es notable la escasez de investigaciones y especies estudiadas en la mayoría de los países del continente. Acerca de Chile, Paraguay y Uruguay no se encontró información sobre los patrones de alimentación sanguínea de ninguna especie de mosquito, y en otros países como Guyana, Guayana Francesa y Venezuela, sólo unas pocas especies de *Anopheles* han sido escasamente investigadas. Contrario a la lógica de considerar las colectas de cebo humano como una metodología en desuso por cuestiones éticas, ha sido el enfoque más utilizado hasta la fecha. Más recientemente se han desarrollado adaptaciones que minimizan el riesgo del uso de dicha metodología para la persona que actúa como cebo. La técnica de atracción humana protegida y el uso de dobles redes para cebo humano, son algunas de estas alternativas que permiten atraer y coleccionar mosquitos sin exponer a la persona a picaduras (Tangena et al. 2015). La identificación serológica de mosquitos alimentados con sangre recolectados en campo aumentó durante el período 2000-2009, probablemente impulsada por el cambio de las técnicas de precipitina a las de ELISA. Aunque los estudios moleculares están actualmente en tendencia, su contribución en Sudamérica sigue siendo incipiente y se espera que aumente considerablemente en un futuro cercano. Los dos tipos de métodos de identificación de la ingesta sanguínea disponibles, serológicos y moleculares, son valiosos, pero deben utilizarse de acuerdo con el objetivo principal de la investigación. Para comprender los patrones de alimentación sobre un único hospedador, como los humanos, los métodos serológicos pueden resultar útiles; sin embargo, deben considerarse sus limitaciones, como la posibilidad de obtener falsos positivos. Por otro lado, si el objetivo es investigar el espectro de hospedadores hasta el nivel de especie, la amplificación por PCR de regiones conservadas seguida de secuenciación es indispensable.

Las colectas con cebo humano contribuyeron a la identificación de muchas especies de mosquitos antropofílicos. De ellas, más de la mitad también fueron atraídas y/o se alimentaron de otros vertebrados, lo que proporciona pistas para futuras investigaciones sobre los ciclos de transmisión de ciertas enfermedades. En cuanto a los estudios con cebos animales, los anfibios y reptiles fueron en

su mayoría excluidos por los investigadores debido a su aparente baja relevancia epidemiológica. A pesar de esto, las trampas con cebo hicieron enormes contribuciones sobre la elección de hospedadores entre aves, humanos y otros mamíferos, mejorando la comprensión de la transmisión de determinadas arbovirosis que afectan a los humanos. Sin embargo, es necesario remarcar que una trampa puede ser atractiva en sí misma al actuar como refugio o lugar de descanso, y también un animal utilizado como cebo podría atraer a especímenes que finalmente no se alimenten de él. Por estas razones, la información proporcionada por estudios que reportan individuos alimentados (e.g. Mitchell et al. 1985, Stein et al. 2013) podría considerarse de mayor utilidad, o al menos certeza, que los que solamente reportan ejemplares colectados dentro de las trampas cebadas. Asimismo, identificar la ingesta sanguínea de los mosquitos colectados en trampas cebadas permitiría confirmar que efectivamente se alimentaron del animal utilizado como cebo. No obstante, ninguna de las investigaciones utilizó técnicas de identificación de ingesta sanguínea para confirmar la fuente de sangre de mosquitos colectados con cebo. Los estudios que evaluaron las proporciones de especímenes alimentados en diferentes cebos animales (e.g. Stein et al. 2013) sugieren interpretaciones diferentes de la preferencia por distintos hospedadores al comparar el número total de mosquitos atraídos a una trampa y la proporción de individuos que realmente se alimentaron del cebo.

Es inevitable preguntarse si la elección del hospedador reportada en los estudios de trampas con cebo es representativa del comportamiento natural de alimentación de los mosquitos, dado que los hospedadores están, por definición, atrapados y altamente disponibles. La comparación de los resultados entre las trampas con cebo y la identificación de la ingesta de sangre de mosquitos recolectados en campo realizada en este capítulo sugiere fuertemente que, en condiciones naturales, los mosquitos se alimentan de un rango más amplio de taxones. Estas diferencias en los patrones de alimentación observadas para muchas especies de mosquitos según la metodología empleada son probablemente el hallazgo más sustancial del presente capítulo. Sin embargo, es importante destacar que las trampas con cebo también aumentaron la diversidad de hospedadores para varias especies de mosquitos. En consecuencia, ambas metodologías descritas son claramente complementarias e idealmente, deberían ser utilizadas en conjunto cuando se persigue un estudio exhaustivo sobre qué prefieren los mosquitos y qué es lo que realmente pican.

La importancia de considerar la abundancia relativa de vertebrados para interpretar las preferencias de hospedadores de los mosquitos ya se destacó a fines de la década de 1960 (Hess et al. 1968). De todos modos, la forma en que se estima la disponibilidad de hospedadores es altamente relevante. Todos los métodos disponibles son imperfectos y cada uno de ellos presenta diferentes formas de

sesgo y error. Además, una descripción general de la disponibilidad del hospedador no resuelve otros problemas, como los señalados por Edman (1971) al desalentar el uso de métricas de alimentación. La primera razón se refiere a cuál hospedador aceptable (es decir, disponible y atractivo) se encuentra más cerca de un espécimen de mosquito cuando y donde busca alimentarse de sangre. Esta distancia es imposible de evaluar y, aunque está asociada, no puede derivarse directamente de la densidad de hospedadores. La segunda son los variados rangos de dispersión de distintas especies de mosquitos en relación con el ambiente. Algunas parecen reacias a abandonar su hábitat preferido incluso en la búsqueda de sangre, mientras que otras recorren largas distancias al aire libre durante la búsqueda de hospedadores. Además, algunos hospedadores abundantes pueden ser inaccesibles por razones distintas a la densidad (e.g. ubicarse dentro de madrigueras, nidos en árboles o casas durante los períodos de alimentación de los mosquitos) o pueden presentar un comportamiento defensivo intenso. Dicho esto, las métricas de alimentación sugieren preferencia o evitación del hospedador, pero no pueden probarlo. Sin embargo, pueden hacer que los análisis de ingesta de sangre aporten conclusiones más sólidas al proporcionar información adicional del hospedador (i.e. su abundancia relativa) (Fikrig & Harrington 2021).

Es importante destacar que un hospedador poco seleccionado podría ser, no obstante, de alta relevancia epidemiológica si forma parte de un ciclo de transmisión determinado, y podría ser también un componente importante de la alimentación de una especie de mosquito si está presente en alta abundancia en el ambiente. La pregunta ¿Cuál es la preferencia de hospedador de una especie de mosquito? puede responderse mediante experimentos con trampas con cebos o mediante la identificación de ingesta sanguínea de especímenes recolectados en campo junto con la estimación de la disponibilidad de hospedadores. Por otro lado, ¿Cuál es el rango de hospedadores de una especie determinada? requiere de la identificación de sangre de una gran cantidad de especímenes para abarcar tanto las fuentes de alimento más abundantes como las menos frecuentes. Aunque ambos enfoques proporcionan información diferente y complementaria, el segundo es presumiblemente de mayor relevancia epidemiológica.

Finalmente, la información detallada y compilada en los Anexos 2.1 y 2.2 servirá como guía para futuras investigaciones en Sudamérica, para cubrir los enormes vacíos de información respecto a los patrones de ingesta sanguínea de mosquitos.

2.4 ANEXOS

A continuación se provee el enlace al material complementario en formato electrónico.

Anexo 2.1: Resumen de estudios disponibles sobre la ingesta sanguínea de mosquitos en cada país de Sudamérica hasta fines de 2020; referencias entre [corchetes].

[Supplementary file1 \(XLSX 238 kb\)](#)

Anexo 2.2: Información detallada sobre los patrones de ingesta sanguínea de especies de mosquitos en Sudamérica; referencias dentro de [corchetes] y números de individuos de mosquitos estudiados dentro de {llaves}; {ni} significa no informado.

[Supplementary file2 \(XLSX 66.1 kb\)](#)

Anexo 2.3: Preferencia de hospedadores de especies de mosquitos reportada por estudios de indentificación de la ingesta sanguínea de mosquitos recolectados en campo, estimando la disponibilidad de hospedadores en Sudamérica; referencias dentro de [corchetes]. Códigos de países: AR Argentina, BO Bolivia, BR Brasil, CO Colombia, EC Ecuador, PE Perú, VE Venezuela.

[Supplementary file3 \(XLSX 11.3 kb\)](#)

2.5 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS DE LA REVISIÓN DE LITERATURA

2.5.1 Bibliografía de la revisión realizada hasta finales de 2020

- Acosta M (1960) Preferencias alimenticias del *Anopheles pseudopunctipennis* y *A. triannulatus* en el Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública* **13**:77-83.
- Adde A, Dusfour I, Roux E, Girod R & Biolant S (2016) *Anopheles* fauna of coastal Cayenne, French Guiana: modelling and mapping of species presence using remotely sensed land cover data. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **111**:50-756.
- Ahid S & Lourenço de Oliveira R (1999) Mosquitoes potential vectors of canine heartworm in the Northeast Region from Brazil. *Revista de Saúde Pública* **33**:560-565.
- Ahumada M, Pareja P, Buitrago L & Quiñones M (2013) Comportamiento de picadura de *Anopheles darlingi* Root, 1926 (Diptera: Culicidae) y su asociación con la transmisión de malaria en Villavicencio (Colombia). *Biomédica* **33**:241-250.
- Alencar J, Lorosa E, Dos Santos Silva J, Lopes C & Guimarães A (2005) Observações sobre padrões alimentares de mosquitos (Diptera: Culicidae) no pantanal Mato-Grossense. *Neotropical Entomology* **34**:681-687.
- Alencar J, Dos Santos Silva J, Motta de Oliveira LC, Marcondes C, Morone F & Seixas Lorosa E (2012) Feeding patterns of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) from Eastern Santa Catarina State, Brazil. *Journal of Medical Entomology* **49**:952-954.
- Almirón WR & Brewer MM (1995) Host preference of Culicidae (Diptera) collected in central Argentina. *Revista de Saúde Pública* **29**:108-114.
- Asigau S, Salah S & Parker P (2019) Assessing the blood meal hosts of *Culex quinquefasciatus* and *Aedes taeniorhynchus* in Isla Santa Cruz, Galápagos. *Parasites & Vectors* **12**:584.
- Barbosa A, Navarro-Silva MA & Calado D (2003) Atividade de Culicidae em remanescente florestal na região urbana de Curitiba (Paraná, Brasil). *Revista Brasileira de Zoologia* **20**:59-63.
- Bastos Cruz R, Soares Gil LH, de Almeida e Silva A, da Silva Araújo M & Hiroshi Katsuragawa T (2009) Mosquito abundance and behavior in the influence area of the hydroelectric complex on the Madeira River, Western Amazon, Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **103**:1174-1176.
- Bataille A, Cunningham A, Cedeño V, Patiño L, Constantinou A, Kramer L & Goodman S (2009) Natural colonization and adaptation of a mosquito species in Galápagos and its implications for disease threats to endemic wildlife. *PNAS* **106**:10230-10235.
- Bataille A, Fournié G, Cruz M, Cedeño V, Parker P, Cunnigha A & Goodman S (2012) Host selection and parasite infection in *Aedes taeniorhynchus*, endemic disease vector in the Galápagos Islands. *Infection, Genetic and Evolution* **12**:1831-1841.

- Berrón CI (2014) Preferencia de hospedadores aviares en especies de mosquitos Género *Culex* asociadas a la transmisión de Flavivirus (Flaviviridae) en el arco sur de la Laguna Mar Chiquita. PhD Thesis, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. **164 págs.**
- Berti J, Zimmerman R & Amarista J (1993) Adult abundance, biting behavior and parity of *Anopheles aquasalis*, Curry 1932 in two malarious areas of Sucre State, Venezuela. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **88**:363-369.
- Brochero H, Pareja P, Ortiz G & Olano V (2006) Sitios de cría y actividad de picadura de especies de *Anopheles* en el municipio de Cimitarra, Santander, Colombia. *Biomédica* **26**:269-277.
- Charlwood JD (1980) Observations on the bionomics of *Anopheles darlingi* Root (Diptera: Culicidae) from Brazil. *Bulletin of Entomological Research* **70**:685-692.
- Charlwood JD & Alecrim WA (1989) Capture-recapture studies with the South American malaria vector *Anopheles darlingi*, Root. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* **83**:569-576.
- Charlwood JD & Hayes J (1978) Variações geográficas no ciclo de picada do *Anopheles darlingi* Root no Brasil. *Acta Amazonica* **8**:601-603.
- Charlwood JD & Wilkes T (1981) Observations on the biting activity of *Anopheles triannulatus bachmanni* from the Mato Grosso, Brazil. *Acta Amazonica* **11**:67-69.
- Cruz C, Valle J & Ruiz A (2004) Determinación de los hábitos de *An. pseudopunctipennis* y *An. calderoni* en dos localidades del Valle de Chao. La Libertad, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública* **21**:223-230.
- Da Silva-Vasconcelos A, Neves Kató MY, Mourão E, Tadeu Lessa de Souza R, da Luz Lacerda R, Sibajev A, Tsouris P, Póvoa M, Momen H & Rosa-Freitas M (2002) Biting indices, host-seeking activity and natural infection rates of Anopheline species in Boa Vista, Roraima, Brazil from 1996 to 1998. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **97**:151-161.
- Davis N & Shannon R (1928) The blood feeding habits of *Anopheles pseudopunctipennis* in Northern Argentina. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **1**:443-447.
- Deane LM, Vernin CS & Damasceno RG (1949) Avaliação das preferências alimentares das fêmeas de *Anopheles darlingi* e *Anopheles aquasalis* em Belém, Pará, por meio de provas de precipitina. *Revista do Serviço Especial de Saúde Pública*, Rio de Janeiro **2**:793-808.
- De Carvalho GC, dos Santos Malafronte R, Izumisawa C, Souza Teixeira R, Natal L & Toledo Marrelli M (2014) Blood meal sources of mosquitoes captured in municipal parks in São Paulo, Brazil. *Journal of Vector Ecology* **39**:146-152.
- De Castro Gomes A, Nascimento Torres MA, Bicudo de Paula M, Fernandes A, Marassá AA, Consales C & Fernandes Fonseca D (2010) Ecology of *Haemagogus* and *Sabethes* (Diptera: Culicidae) mosquitoes in epizootic yellow fever regions of Rio Grande do Sul State, Brazil. *Epidemiologia e Serviços de Saúde* **19**:101-113.
- De Kruijf HAM (1972) Aspects of the ecology of mosquitoes in Surinam. *Studies on the Fauna of Suriname and other Guyanas* **13**:1-56.

- dos Santos Silva J, Alencar J, Costa J, Seixas-Lorosa E & Guimarães A (2012) Feeding patterns of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in six Brazilian environmental preservation areas. *Journal of Vector Ecology* **37**:342-350.
- Dusfour I, Carinci R, Issaly J, Gaborit P & Girod R (2013) A survey of adult anophelines in French Guiana: enhanced descriptions of species distribution and biting responses. *Journal of Vector Ecology* **38**:203-208.
- Escovar J, González R & Quiñones M (2013) Anthropophilic biting behaviour of *Anopheles (Kerteszia) neivai* Howard, Dyar and Knab associated with Fishermen's activities in a malaria-endemic area in the Colombian Pacific. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **108**:1057-1064.
- Flores-Mendoza C, Cunha R, Rocha D & Lourenço de Oliveira R (1996) Determinação das fontes alimentares de *Anopheles aquasalis* (Diptera: Culicidae) no Estado do Rio de Janeiro, Brasil, pelo teste de precipitina. *Revista de Saúde Pública* **30**:129-134.
- Flores-Mendoza C, Fernández R, Escobedo-Vargas K, Vela-Perez Q & Schoeler G (2004) Natural *Plasmodium* infections in *Anopheles darlingi* and *Anopheles benarrochi* (Diptera: Culicidae) from Eastern Peru. *Journal of Medical Entomology* **41**:489-494.
- Forattini OP, Mureb Sailum MA, Kakitani I, Massad E & Marucci D (1995a) Studies on mosquitoes (Diptera: Culicidae) and anthropic environment. 8- Survey of adult behaviour of Spissipes Section species of *Culex (Melanoconion)* in South-Eastern Brazil. *Revista de Saúde Pública* **29**:100-107.
- Forattini OP, Kakitani I, Massad E & Marucci D (1995b) Studies on mosquitoes (Diptera: Culicidae) and anthropic environment. 9- Synanthropy and epidemiological vector role of *Aedes scapularis* in South-Eastern Brazil. *Revista de Saúde Pública* **29**:199-207.
- Forattini OP, Kakitani I, Massad E & Marucci D (1995c) Studies on mosquitoes (Diptera: Culicidae) and anthropic environment. 10- Survey of adult behaviour of *Culex nigripalpus* and other species of *Culex (Culex)* in South-Eastern Brazil. *Revista de Saúde Pública* **29**:271-278.
- Forattini OP, Kakitani I, Massad E & Marucci D (1996a) Studies on mosquitoes (Diptera: Culicidae) and anthropic environment. 11 - Biting activity and blood-seeking parity of *Anopheles (Kerteszia)* in South-Eastern Brazil. *Revista de Saúde Pública* **30**:107-114.
- Forattini OP, Kakitani I, Massad E & Marucci D (1996b) Studies on mosquitoes (Diptera: Culicidae) and anthropic environment. 12- Host-seeking behaviour of *Anopheles albitarsis* s.l. in South-Eastern Brazil. *Revista de Saúde Pública* **30**:299-303.
- Forattini OP, Kakitani I, La Corte dos Santos R, Mariko Ueno H & Kobayashi K (1999) Role of *Anopheles (Kerteszia) bellator* as Malaria Vector in Southeastern Brazil (Diptera: Culicidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **94**:715-718.
- Forattini OP, Kakitani I, La Corte dos Santos R, Kobayashi K, Mariko Ueno H & Fernandez Z (2000) Adults *Aedes albopictus* and *Ae. scapularis* behavior (Diptera: Culidae) in Southeastern Brazil. *Revista de Saúde Pública* **34**:461-467.

- Forattini OP & de Castro Gomes A (1988a) Biting activity of *Aedes scapularis* (Rondani) and *Haemagogus* mosquitoes in southern Brazil (Diptera: Culicidae). *Revista de Saúde Pública* **22**:84-93.
- Forattini OP & de Castro Gomes A (1988b) Biting activity patterns of *Culex (Melanoconion) ribeirensis* in Southern Brazil. *Journal of the American Mosquito Control Association* **4**:175-178.
- Forattini OP, de Castro Gomes A, Natal D, Kakitani I & Marucci D (1987) Preferencias alimentares de mosquitos Culicidae no Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil. *Revista de Saúde Pública* **21**:171-187.
- Forattini OP, de Castro Gomes A, Ferreira Santos JL, Bianchi Galati EA, Rabello EX & Natal D (1981) Observações sobre atividade de mosquitos Culicidae, em Mata Residual no Vale do Ribeira, S. Paulo, Brasil. *Revista de Saúde Pública* **15**:557-586.
- Forattini OP, de Castro Gomes A, Natal D, Kakitani I & Marucci D (1987) Preferencias alimentares de mosquitos Culicidae no Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil. *Revista de Saúde Pública* **21**:171-187.
- Forattini OP, de Castro Gomes A, Natal D, Kakitani I & Marucci D (1989) Preferencias alimentares e domiciliação de mosquitos culicidae no vale do Ribeira, São Paulo, Brasil, com especial referencia a *Aedes scapularis* e a *Culex (Melanoconion)*. *Revista de Saúde Pública* **23**:9-19.
- Forattini OP, Kakitani I, Massad E & de Castro Gomes A (1993) Studies on mosquitoes (Diptera: Culicidae) and anthropic environment. 1- Parity of blood seeking *Anopheles* (Kerteszia) in South-Eastern Brazil. *Revista de Saúde Pública* **27**:1-8.
- Fouque F, Gaborit P, Carinci R, Issaly J & Girod R (2010) Annual variations in the number of malaria cases related to two different patterns of *Anopheles darlingi* transmission potential in the Maroni área of French Guiana. *Malaria Journal* **9**:80.
- Galardo AKR, Arruda M, D’Almeida Couto A, Wirtz R, Lounibos LP & Zimmerman R (2007) Malaria vector incrimination in three rural riverine villages in the Brazilian Amazon. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **76**:461-469.
- Galardo AKR, Zimmerman RH, Lounibos LP, Young LJ, Galardo CD, Arruda M & D’Almeida Couto A (2009) Seasonal abundance of anopheline mosquitoes and their association with rainfall and malaria along the Matapí River, Amapá, Brazil. *Medical and Veterinary Entomology* **23**:335-349.
- Galeano-Castañeda Y, Gómez G, Hernández-Valencia J & Correa M (2019) Distribution and entomological parameters of *Anopheles (Anopheles) calderoni* (Diptera: Culicidae) from Colombia. *Revista Mexicana de Biodiversidad* **90**:e902654.
- Galvão ALA, Damasceno RG & Marques AP (1942) Algumas observações sobre a biologia dos anofelinos de importância epidemiológica de Belem, Pará. *Arq. Hig. (Rio de Janeiro)* **12**:51-111.

- Gama R, Santos R, dos Santos F, Silva I, Resende M & Eiras A (2009) Periodicidade de captura de *Anopheles darlingi* Root (Diptera: Culicidae) em Porto Velho, RO. *Neotropical Entomology* **38**:677-682.
- Giglioli G (1963) Ecological change as a factor in renewed malaria transmission in an eradicated area. A localized outbreak of *A. aquasalis*-transmitted malaria on the Demerara River Estuary, British Guiana, in the fifteenth year of *A. darlingi* and malaria eradication. *Bulletin of the World Health Organization* **29**:131-145.
- Girod R, Gaborit P, Carinci R, Issaly J & Fouque F (2008) *Anopheles darlingi* bionomics and transmission of *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax* and *Plasmodium malariae* in Amerindian villages of the Upper-Maroni Amazonian forest, French Guiana. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **103**:702-710.
- Girod R, Roux E, Berger F, Stefani A, Gaborit P, Carinci R, Issaly J, Carme B & Dusfour I (2011) Unravelling the relationships between *Anopheles darlingi* (Diptera: Culicidae) densities, environmental factors and malaria incidence: understanding the variable patterns of malarial transmission in French Guiana (South America). *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* **105**:107-122.
- Gomes AC, Silva NN, Marques GRAM & Brito M (2003) Host-feeding patterns of potential human disease vectors in the Paraíba Valley Region, State of São Paulo, Brazil. *Journal of Vector Ecology* **28**:74-78.
- Guimarães A, Arlé M & Machado R (1987) Mosquitos no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. IV. Preferência alimentar. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **82**:277-285.
- Guimarães A, Pinto de Mello R, Macedo Lopes C, Alencar J & Gentile C (1997) Prevalência de anofelinos (Diptera: Culicidae) no crepúsculo vespertino em áreas da usina hidrelétrica de Itaipu, no Município de Guaíra, Estado do Paraná, Brasil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **92**:745-754.
- Guimarães A, Pinto de Mello R, Macedo Lopes C & Gentile C (2000) Ecology of Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Areas of Serra do Mar State Park, State of São Paulo, Brazil. I – Monthly Frequency and Climatic Factors. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **95**:1-16.
- Guimarães A, Gentile C, Lopes C & Sant’Anna A (2001) Ecology of mosquitoes in areas of the National Park of “Serra da Bocaina”, Brazil. II – Monthly frequency and climatic factors. *Revista de Saúde Pública* **35**:392-399.
- Gutiérrez L, Naranjo N, Jaramillo L, Muskus C, Luckhart S, Conn J & Correa M (2008) Natural infectivity of *Anopheles* species from the Pacific and Atlantic Regions of Colombia. *Acta Tropica* **107**:99-105.
- Gutiérrez L, González J, Gómez G, Castro M, Rosero D, Luckhart S, Conn J & Correa M (2009) Species composition and natural infectivity of anthropophilic *Anopheles* (Diptera: Culicidae) in the states of Córdoba and Antioquia, Northwestern Colombia. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **104**:1117-1124.

- Hack WH, Torales GJ, Bar ME & Oscherov B (1978) Observaciones etológicas sobre culicidos de Corrientes. *Revista de la Sociedad Entomológica de Argentina* **37**:137-151.
- Harris A, Matias-Arnéz A & Hill N (2006) Biting time of *Anopheles darlingi* in the Bolivian Amazon and implications for control of malaria. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **100**:45-47.
- Hayes J, Calderon G, Falcon R & Zambrano V (1987) Newly incriminated *Anopheline* vectors of human malaria parasites in Junin Department, Peru. *Journal of the American Mosquito Control Association* **3**:418-422.
- Hiwat H, Issaly J, Gaborit P, Somai A, Samjhawan A, Sardjoe P, Soekhoe T & Girod R (2010) Behavioral heterogeneity of *Anopheles darlingi* (Diptera: Culicidae) and malaria transmission dynamics along the Maroni River, Suriname, French Guiana. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **104**:207-213.
- Hiwat H, Mitro S, Samjhawan A, Sardjoe P, Soekhoe T & Takken W (2012) Collapse of *Anopheles darlingi* populations in Suriname after introduction of insecticide-treated nets (ITNs); malaria down to near elimination level. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **86**:649-655.
- Hoyos Loaiza M (2018) Evaluación de redes de interacción mosquito-vertebrado a partir de disponibilidad hospederos y análisis de fuentes sanguíneas en un bosque fragmentado con potencialidad de ciclos enzoóticos en Colombia. Master Thesis, Universidad de los Andes, Colombia. **41 págs.**
- Hudson JE (1984) *Anopheles darlingi* Root (Diptera: Culicidae) in the Suriname rain forest. *Bulletin of Entomological Research* **74**:129-142.
- Jiménez P, Conn J, Wirtz R & Brochero H (2012) *Anopheles* (Diptera: Culicidae) vectores de malaria en el municipio de Puerto Carreño, Vichada, Colombia. *Biomédica* **32**:13-21.
- Jones J, Turell M, Sardelis M, Watts D, Coleman R, Fernandez R, Carbajal F, Pecor J, Calampa C & Klein T (2004) Seasonal distribution, biology, and human attraction patterns of culicine mosquitoes (Diptera: Culicidae) in a forest near Puerto Almendras, Iquitos, Peru. *Journal of Medical Entomology* **41**:349-360.
- Klein T, Lima JBP & Tang AT (1991) Biting behavior of *Anopheles* mosquitoes in Costa Marques, Rondonia, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* **24**:13-20.
- Klein T & Lima JBP (1990) Seasonal distribution and biting patterns of *Anopheles* mosquitoes in Costa Marques, Rondonia, Brazil. *Journal of the American Mosquito Control Association* **6**:700-707.
- Kumm HW & Novis O (1938) Mosquito studies on the Ilha de Marajó, Pará, Brazil. *American Journal of Epidemiology* **27**:498-515.
- Labarthe N, Serrão ML, Fontenele Melo Y, José de Oliveira S & Lourenço de Oliveira R (1998) Mosquito frequency and feeding habits in an enzootic canine dirofilariasis area in Niterói, State of Rio de Janeiro, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **93**:145-154.

- Laporta G, Crivelaro T, Vicentin E, Amaro P, Branquinho MS & Sallum MA (2008) *Culex nigripalpus* Theobald (Diptera, Culicidae) feeding habit at the Parque Ecológico do Tietê, São Paulo, Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia* **52**:663-668.
- Lardeux F, Loayza P, Bouchité B & Chavez T (2007) Host choice and human blood index of *Anopheles pseudopunctipennis* in a village of the Andean valleys of Bolivia. *Malaria Journal* **6**:1-14.
- León W, Valle J, Naupay R, Tineo E, Rosas A & Palomino M (2003) Comportamiento estacional del *Anopheles (Nyssorhynchus) darlingi* Root 1926 en localidades de Loreto y Madre de Dios, Perú 1999-2000. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública* **20**:22-27.
- Ligña Cachago E (2018) Abundancia y comportamiento alimenticio de *Culex quinquefasciatus* Say 1823 (Diptera:Culicidae) en la costa norte de Ecuador. Master Thesis, Universidad San Francisco de Quito, Ecuador. **71 págs.**
- Loetti V, Burroni N & Vezzani D (2007) Seasonal and daily activity patterns of human-biting mosquitoes in a wetland system in Argentina. *Journal of Vector Ecology* **32**:358-365.
- Lourenço de Oliveira R (1984) Alguns aspectos da ecologia dos mosquitos (Diptera: Culicidae) de uma área de planície (Granhos Calábria), em Jacarepaguá, Rio de Janeiro. I. Frecuência comparativa das espécies em diferentes ambientes e métodos de coleta. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **79**:479-490.
- Lourenço de Oliveira R, Guimarães A, Arlé M, Fernandes da Silva T, Gonçalves Castro M, Motta M & Deane L (1989) Anopheline species, some of their habits and relation to Malaria in endemic areas of Rondônia State, Amazon Region of Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **84**:501-514.
- Lourenço de Oliveira R & Fernandes da Silva T (1985) Alguns aspectos da ecologia dos mosquitos (Diptera: Culicidae) de uma área de planície (Granhos Calábria), em Jacarepaguá, Rio de Janeiro. III. Preferência horária das fêmeas para o hematofagismo. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **80**:195-201.
- Lourenço de Oliveira R & Heyden R (1986) Alguns aspectos da ecologia dos mosquitos (Diptera: Culicidae) de uma área de planície (Granhos Calábria), em Jacarepaguá, Rio de Janeiro. IV. Preferencias alimentares quanto ao hospedeiro e frequência domiciliar. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **81**:15-27.
- Lourenço de Oliveira R & Luz SLB (1996) Simian malaria at two sites in the Brazilian Amazon - II. Vertical distribution and frequency of Anopheline species inside and outside the forest. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **91**:687-694.
- Lourenço de Oliveira R (2015) Transmissão vetorial. En: Valle D, Pimenta D, Cunha R (eds). Dengue: teorias e práticas. Editora Fiocruz, Rio de Janeiro, **pp**:127-146.
- Lucumi-Aragón D, González R & Salas-Quinchucua C (2011) Actividad de picadura de *Anopheles calderoni* (Diptera: Culicidae) en dos localidades del Valle del Cauca, Colombia. *Revista Colombiana de Entomología* **37**:256-261.

- Luz SLB & Lourenço de Oliveira R (1996) Forest Culicinae mosquitoes in the environs of Samuel Hydroelectric Plant, State of Rondônia, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **91**:427-432.
- Magris M, Rubio-Palis Y, Menares C & Villegas L (2007) Vector bionomics and malaria transmission in the Upper Orinoco River, Southern Venezuela. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **102**:303-311.
- Marassá AM, Paula MB, Gomes AC & Consales CA (2009) Biotin-Avidin Sandwich Elisa with specific human isotypes IgG1 and IgG4 for culicidae mosquito blood meal identification from an epizootic yellow fever area in Brazil. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases* **15**:696-706.
- Marques GR & de Castro Gomes A (1997) Anthropophilic behaviour of *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) in the Vale do Paraíba region, Southeastern Brazil. *Revista de Saúde Pública* **31**:125-130.
- Mendenhall IH, Tello SA, Neira LA, Castillo LF, Ocampo CB & Wesson DM (2012) Host preference of the arbovirus vector *Culex erraticus* (Diptera: Culicidae) at Sonso Lake, Cauca Valley Department, Colombia. *Journal of Medical Entomology* **49**:1092-1102.
- Mitchell CJ, Darsie RF, Monath TP, Sabattini MS & Daffner JF (1985) The use of an animal-baited net trap for collecting mosquitoes during Western Equine Encephalitis investigations in Argentina. *Journal of the American Mosquito Control Association* **1**:43-47.
- Mitchell CJ, Monath TP, Sabattini MS, Christensen HA, Darsie RF, Jakob WL & Daffner JF (1987) Host feeding patterns of Argentine mosquitoes (Diptera: Culicidae) collected during and after an epizootic of Western Equine Encephalitis. *Journal of Medical Entomology* **24**:260-267.
- Monteiro de Barros F & Honório N (2007) Man biting rate seasonal variation of malaria vectors in Roraima, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **102**:299-302.
- Moreno JE, Rubio-Palis Y, Pérez E, Sánchez V & Páez E (2002) Evaluación de tres métodos de captura de anofelinos en un área endémica de malaria del estado Bolívar, Venezuela. *Entomotropica* **17**:157-165.
- Moreno JE, Rubio-Palis Y, Páez E, Pérez E & Sánchez V (2007) Abundance, biting behaviour and parous rate of Anopheline mosquito species in relation to malaria incidence in gold-mining areas of southern Venezuela. *Medical and Veterinary Entomology* **21**:339-349.
- Moreno M, Saavedra M, Bickersmith S, Lainhart W, Tong C, Alava F, Vinetz J & Conn J (2015) Implications for changes in *Anopheles darlingi* biting behaviour in three communities in the peri-Iquitos region of Amazonian Peru. *Malaria Journal* **14**:290.
- Moreno M, Saavedra M, Bickersmith S, Prussing C, Michalski A, Tong Rios C, Vinetz J & Conn J (2017) Intensive trapping of blood-fed *Anopheles darlingi* in Amazonian Peru reveals unexpectedly high proportions of avian blood-meals. *PLoS Neglected Tropical Diseases* **11**:e0005337.

- Moutinho PR, Soares Gil L, Bastos Cruz R & Martins Ribolla PE (2011) Population dynamics, structure and behavior of *Anopheles darlingi* in a rural settlement in the Amazon rainforest of Acre, Brazil. *Malaria Journal* **10**:174.
- Mucci LF, Cardoso Júnior RP, Bicudo de Paula M, Salloum Scandar SA, Pacchioni ML, Fernandes A & Aschenbrenner Consales C (2015). Feeding habits of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in an area of sylvatic transmission of yellow fever in the state of São Paulo, Brazil. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases* **21**:6.
- Naranjo-Díaz N, Rosero D, Rua-Urbe G, Luckhart S & Correa M (2013) Abundance, behavior and entomological inoculation rates of anthropophilic anophelines from a primary Colombian malaria endemic área. *Parasites & Vectors* **6**:61.
- Naranjo-Díaz N, Altamiranda M, Luckhart S, Conn J & Correa M (2014) Malaria vectors in ecologically heterogeneous localities of the Colombian Pacific Region. *PLoS ONE* **9**:e103769.
- Naranjo-Díaz N, Sallum M & Correa M (2016) Population dynamics of *Anopheles nuneztovari* in Colombia. *MEEGID* **45**:56-65.
- Navarro JC, Arrivillaga J, Morales D, Ponce P & Cevallos V (2015) Evaluación rápida de biodiversidad de mosquitos (Diptera: Culicidae) y riesgo en salud ambiental en un área Montana del Chocó Ecuatoriano. *Entomotropica* **30**:160-173.
- Need J, Rogers E, Phillips I, Falcon R, Fernandez R, Carbajal F & Quintana J (1993) Mosquitoes (Diptera: Culicidae) captured in the Iquitos area of Peru. *Journal of Medical Entomology* **30**:634-638.
- Olano V, Carrasquilla G & Méndez F (1997) Transmisión de la malaria urbana en Buenaventura, Colombia: aspectos entomológicos. *Pan American Journal of Public Health* **1**:287-294.
- Orjuela L, Ahumada M, Avila I, Herrera S & Beier J (2015) Human biting activity, spatial-temporal distribution and malaria vector role of *Anopheles calderoni* in the southwest of Colombia. *Malaria Journal* **14**:256.
- Palermo P, Aguilar P, Sanchez J, Zorrilla V, Flores-Mendoza C, Huayanay A, Guevara C, Lescano A & Halsey E (2016) Identification of blood meals from potential arbovirus mosquito vectors in the Peruvian Amazon Basin. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **95**:1026-1030.
- Pereira Figueiredo MA, Di Santi SA, Gómez Manrique W, Gonçalves LR, André M & Zacarias Machado R (2017) Molecular identification of *Plasmodium spp.* and blood meal sources of anophelines in environmental reserves on São Luís Island, state of Maranhão, Brazil. *Parasites & Vectors* **10**:203.
- Pereira dos Santos T, Roiz D, Santos de Abreu FV, Bessa Luz SL, Santalucia M, Jiolle D, Santos Neves MSA, Simard F, Lourenço-de-Oliveira R & Paupy C (2018) Potential of *Aedes albopictus* as a bridge vector for enzootic pathogens at the urban-forest interface in Brazil. *Emerging Microbes & Infections* **7**:191.

- Póvoa MM, Wirtz RA, Lacerda RNL, Miles MA & Warhurst D (2001) Malaria vectors in the Municipality of Serra do Navio, State of Amapá, Amazon Region, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **96**:179-184.
- Póvoa MM, Conn J, Schlichting C, Amaral J, Segura MN, da Silva ANM, dos Santos C, Lacerda R, de Souza R, Caliza D, Santa Rosa E & Wirtz RA (2003) Malaria vectors, epidemiology, and the re-emergence of *Anopheles darlingi* in Belém, Pará, Brazil. *Journal of Medical Entomology* **40**:379-386.
- Póvoa MM, Lessa de Souza R, da Luz Lacerda R, Santa Rosa E, Galiza D, Rodrigues de Souza J, Wirtz RA, Schlichting C & Conn J (2006) The importance of *Anopheles albitarsis* E and *An. darlingi* in human malaria transmission in Boa Vista, state of Roraima, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **101**:163-168.
- Quiñones M, Suarez M, Rodriguez A, Fleming G & Galvis L (1984) Comportamiento de *Anopheles (Kerteszia) lepidotus* Zavortink, 1973, y su incriminación como posible vector de malaria en el Departamento del Tolima, Colombia. *Biomédica* **4**:5-13.
- Quiñones M, Ruiz F, Calle D, Harbach R, Erazo H & Linton Y (2006) Incrimination of *Anopheles (Nyssorhynchus) rangeli* and *An. (Nys.) oswaldoi* as natural vectors of *Plasmodium vivax* in Southern Colombia. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **101**:617-623.
- Ramos do Carmo A (2006) Identificação das fontes alimentares de mosquitos transmissores da Malária na Amazonia Brasileira pela técnica de bloodmeal ELISA. Master Thesis, Universidad Federal do Pará, Brasil. **47 págs.**
- Reinbold-Wasson D, Sardelis M, Jones J, Watts D, Fernandez R, Carbajal F, Pecor J, Calampa C, Klein T & Turell M (2012) Determinants of *Anopheles* seasonal distribution patterns across a forest to periurban gradient near Iquitos, Peru. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **86**:459-463.
- Roberts D, Peyton EL, Pinheiro F, Balderrama F & Vargas R (1985) Asociación de vectores de arbovirus con galerías arbóreas y el medio doméstico en el sureste de Bolivia. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana* **98**:417-430.
- Roberts DR, Alecrim WD, Tavares AM & Radke MG (1987) The house-frequenting, Host-seeking and resting behavior of *Anopheles darlingi* in Southeastern Amazonas, Brazil. *Journal of the American Mosquito Control Association* **3**:433-441.
- Roberts DR & Hsi BP (1979) An index of species abundance for use with mosquito surveillance data. *Environmental Entomology* **8**:1007-1013.
- Rodríguez M, Pérez L, Caicedo JC, Prieto G, Arroyo JA, Kaur H, Suárez-Mutis M, de la Hoz F, Lines J & Alexander N (2009) Composition and biting activity of *Anopheles* (Diptera: Culicidae) in the Amazon Region of Colombia. *Journal of Medical Entomology* **46**:307-315.
- Rojas J, Sojo Milano M & Ávila I (2002) Estudios sobre formas preadultas y adultas de *Anopheles nuñeztovari* (Díptera: Culicidae) Gabaldon, 1940, en el área originalmente malárica del estado de Mérida, Venezuela. *Revista Cubana de Medicina Tropical* **54**:127-33.

- Rosero D, Naranjo-Díaz N, Alvarez N, Cienfuegos A, Torres C, Luckhart S & Correa M (2013) Colombian *Anopheles triannulatus* (Diptera: Culicidae) naturally infected with *Plasmodium* spp. *ISRN Parasitology* 927453.
- Rozendaal JA (1987) Observation on the biology and behaviour of Anophelines in the Suriname rainforest with special reference to *Anopheles darlingi* Root. *Cahiers ORSTOM Série Entomologie Médicale et Parasitologie* **25**:33-43.
- Rozendaal JA (1989) Biting and resting behavior of *Anopheles darlingi* in the Suriname rainforest. *Journal of the American Mosquito Control Association* **5**:351-358.
- Rozendaal JA (1992) Relations between *Anopheles darlingi* breeding habitats, rainfall, river level and malaria transmission rates in the rain forest of Suriname. *Medical and Veterinary Entomology* **6**:16-22.
- Rubio-Palis Y & Curtis CF (1992) Biting and resting behaviour of Anophelines in western Venezuela and implications for control of malaria transmission. *Medical and Veterinary Entomology* **6**:325-334.
- Rubio-Palis Y, Curtis CF, González C & Wirtz R (1994) Host choice of Anopheline mosquitoes in a malaria endemic area of western Venezuela. *Medical and Veterinary Entomology* **8**:275-280.
- Rubio-Palis Y (1995) Differential attraction of venezuelan Anophelines to human collectors. *Journal of the American Mosquito Control Association* **11**:482-484.
- Ruíz Márvez E (2011) Estandarización de la técnica de amplificación del gen citocromo b, para identificar la fuente de alimento de *Cx. quinquefasciatus* en el centro agropecuario Marengo de la Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá. Master Thesis, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. **81 págs.**
- Saavedra MP, Conn JE, Alava F, Carrasco-Escobar G, Prussing C, Bickersmith SA, Sangama JL, Fernandez-Minope C, Guzman M, Tong C, Valderrama C, Vinetz JM & Gamboa D (2019) Higher risk of malaria transmission outdoors than indoors by *Nyssorhynchus darlingi* in riverine communities in the Peruvian Amazon. *Parasites & Vectors* **12**:374.
- Santos CS, Pie MR, da Rocha TC & Navarro-Silva MA (2019) Molecular identification of blood meals in mosquitoes (Diptera, Culicidae) in urban and forested habitats in southern Brazil. *PLoS ONE* **14**:e0212517.
- Schiemann D, Quiñones M & Hankeln T (2014) Anthropophilic *Anopheles* species composition and malaria in Tierra dentro, Córdoba, Colombia. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **109**:384-387.
- Schoeler G, Flores-Mendoza C, Fernández R, Reyes Davila J & Zyzak M (2003) Geographical distribution of *Anopheles darlingi* in the amazon basin region of Peru. *Journal of the American Mosquito Control Association* **19**:286-296.
- Seixas Lorosa E, Santos Faria M, Motta de Oliveira LC, Alencar J & Marcondes C (2010) Blood meal identification of selected mosquitoes in Rio de Janeiro, Brazil. *Journal of the American Mosquito Control Association* **26**:18-23.

- Silva do Nascimento T & Lourenço de Oliveira R (2007) Diverse population dynamics of three *Anopheles* species belonging to the *Triannulatus* Complex (Diptera: Culicidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **102**:975-982.
- Soares Gil L, Alvez F, Zieler H, Salcedo J, Durlacher R, Cunha R, Tada M, Camargo L, Camargo E & Pereira da Silva L (2003) Seasonal malaria transmission and variation of Anopheline density in two distinct endemic areas in Brazilian Amazonia. *Journal of Medical Entomology* **40**:636-641.
- Soares Gil L, Tada M, Hiroshi Katsuragawa T, Martins Ribolla P & Pereira da Silva L (2007) Urban and suburban malaria in Rondônia (Brazilian Western Amazon) II. Perennial transmissions with high anopheline densities are associated with human environmental changes. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **102**:271-276.
- Soares Gil L, de Souza Rodrigues M, Alves de Lima A & Hiroshi Katsuragawa T (2015) Seasonal distribution of malaria vectors (Diptera: Culicidae) in rural localities of Porto Velho, Rondônia, Brazilian Amazon. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* **57**:263-267.
- Solarte Y, Hurtado C, Gonzalez R & Alexander B (1996) Man-biting activity of *Anopheles* (*Nyssorhynchus*) *albimanus* and *An. (Kerteszia) neivai* (Diptera: Culicidae) in the Pacific Lowlands of Colombia. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **91**:141-146.
- Souza Santos R (2002) Seasonal distribution of malaria vectors in Machadinho d'Oeste, Rondônia State, Amazon Region, Brazil. *Revista de Saúde Pública* **18**:1813-1818.
- Stein M, Zalazar L, Willener JA, Almeida F & Almirón W (2013) Culicidae (Diptera) selection of humans, chickens and rabbits in three different environments in the province of Chaco, Argentina. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **108**:563-571.
- Tadei W, Mascarenhas B & Podestá M (1983) Biologia de Anofelinos Amazônicos. VIII. Conhecimentos sobre a distribuição de espécies de *Anopheles* na região de Tucuruí-Marabá (Pará). *Acta Amazonica* **13**:103-140.
- Tadei W, Mendes dos Santos J, de Souza Costa W & Scarpassa V (1988) Biologia de Anofelinos amazônicos. XII. Ocorrência de espécies de *Anopheles*, dinâmica da transmissão e controle da malária na zona urbana de Ariquemes (Rondônia). *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* **30**:221-251.
- Tadei W & Dutary Tratcher B (2000) Malaria vectors in the Brazilian Amazon: *Anopheles* of the Subgenus *Nyssorhynchus*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* **42**:87-94.
- Teodoro U, Guilherme AL, Lozovei AL, La Salvia Filho V, Fukushigue Y, Palma Spinosa R, Costa Ferreira ME, Barbosa OC & de Lima EM (1995) Culicídeos do lago de Itaipu, no rio Paraná, Sul do Brasil. *Revista de Saúde Pública* **29**:6-14.
- Tineo E, Medina A, Fallaque C, Chávez L, Quispe S, Mercado A, Zevallos J, León W & Palomino M (2003) Distribución geográfica y comportamiento estacional de la picadura del *Anopheles* (*Nyssorhynchus*) *darlingi* Root en localidades de la frontera Perú-Bolivia, Madre de Dios, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública* **20**:78-83.

- Turell M, Sardelis M, Jones J, Watts D, Fernandez R, Carbajal F, Pecor J & Klein T (2008) Seasonal distribution, biology, and human attraction patterns of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in a rural village and adjacent forested site near Iquitos, Peru. *Journal of Medical Entomology* **45**:1165-1172.
- Vezenegho S, Adde A, Pommier de Santi V, Issaly J, Carinci R, Gaborit P, Dusfour I, Girod R & Briolant S (2016) High malaria transmission in a forested malaria focus in French Guiana: How can exophagic *Anopheles darlingi* thwart vector control and prevention measures? *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **111**:561-569.
- Vittor A, Gilman R, Tielsch J, Glass G, Shields T, Sánchez Lozano W, Pinedo Cancino V & Patz J (2006) The effect of deforestation on the human-biting rate of *Anopheles darlingi*, the primary vector of *Falciparum* Malaria in the Peruvian Amazon. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **74**:3-11.
- Voorham J (2002) Intra-population plasticity of *Anopheles darlingi*'s (Diptera, Culicidae) biting activity patterns in the state of Amapá, Brazil. *Revista de Saúde Pública* **36**:75-80.
- Xavier MM & Rebélo JMM (1999) Species of *Anopheles* (Culicidae, Anophelinae) in a malaria-endemic area, Maranhão, Brazil. *Revista de Saúde Pública* **33**:535-541.
- Zimmerman R, Ribeiro Galardo A, Lounibos L, Arruda M & Wirtz R (2006) Bloodmeal hosts of *Anopheles* species (Diptera: Culicidae) in a malaria-endemic area of the Brazilian Amazon. *Journal of Medical Entomology* **43**:947-956.

2.5.2 Bibliografía de la actualización 2021 - 2024

- Alonso DP, Amorim JA, de Oliveira TMP, de Sá ILR, Possebon FS, de Carvalho DP, Ribeiro KAN, Ribolla PEM & Sallum MAM (2023) Host feeding patterns of *Mansonia* (Diptera, Culicidae) in rural settlements near Porto Velho, State of Rondonia, Brazil. *Biomolecules* **13**:553.
- Alvarez MV, Alonso D, Kadri S, Rufalco-Moutinho P, Bernandes IA, Florindo de Mello AC, Souto AC, Carrasco-Escobar G, Moreno M, Gamboa D, Vinetz JM, Conn JE & Ribolla P (2022) *Nyssorhynchus darlingi* genome-wide studies related to microgeographic dispersion and blood-seeking behavior. *Parasites & Vectors* **15**:106.
- Andrade A, Costa dos Santos N, Castro R, Sousa de Araujo. I, Bastos AdS, magi F, Rodrigues MMdS, Pereira D, Medeiros J & Araújo M (2021) Description of malaria vectors (Diptera: Culicidae) in two agricultural settlements in the Western Brazilian Amazon. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* **63**:e60.
- Bickersmith S, Saavedra M, Prussing C, Lange R, Morales J, Alava F, Vinetz J, Gamboa D, Moreno M & Conn JE (2024) Effect of spatiotemporal variables on abundance, biting activity and parity of *Nyssorhynchus darlingi* (Diptera: Culicidae) in peri-Iquitos, Peru. *Malaria Journal* **23**:112.
- Cardo MV, Carbajo AE, Mozzoni C, Kliger M & Vezzani D (2023) Blood feeding patterns of the *Culex pipiens* complex in equestrian land uses and their implications for arboviral encephalitis risk in temperate Argentina. *Zoonoses and Public Health* **70**:256-268.

- Cardo MV & Vezzani D (2023) Host-mosquito interactions in rural and urban equestrian facilities from temperate Argentina. *Medical and Veterinary Entomology* **37**:816-825.
- Chaves LSM, Bergo ES, Conn JE, Laporta GZ, Prist PR & Sallum MAM (2021) Anthropogenic landscape decreases mosquito biodiversity and drives malaria vector proliferation in the Amazon rainforest. *PLoS ONE* **16**:e0245087.
- Conn JE, Bickersmith SA, Saavedra M, Morales J, Alava F, Rodriguez G, Morante CdA, Tong C, Alvarez-Antonio C, Huanahui J, Vinetz J & Gamboa D (2023) Natural infection of *Nyssorhynchus darlingi* and *Nyssorhynchus benarrochi* B with *Plasmodium* during the dry season in the understudied low-transmission setting of Datem del Marañon Province, Amazonian Peru. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **109**:288-295.
- Farnesi LC, Carvalho F, Lacerda AP, Moreira L & Bruno R (2021) The influence of different sources of blood meals on the physiology of *Aedes aegypti* harboring *Wolbachia* wMel: mouse blood as an alternative for mosquito rearing. *Parasites & Vectors* **24**:21.
- Galardo AK, Hijjar A, Falcão L, Carvalho D, Ribeiro KA, Silveira G, Neto NF & Saraiva J (2022) Seasonality and biting behavior of *Mansonia* (Diptera, Culicidae) in rural settlements near Porto Velho, State of Rondônia, Brazil. *Journal of Medical Entomology* **59**:883-890.
- Guidez A, Tirera S, Talaga S, Lacour S, Carinci R, Darcissae E, Donato D, Gaborit P, Clervil E, Epelboin Y, Thoisy dB, Dusfour I, Duchemin JB & Lavergne A (2024) Mosquito feeding habits in coastal French Guiana: mammals in the crosshairs? *Insects* **15**:718.
- Guimarães LdO, Simões RF, Chagas CRF, Menezes RMTd, Silva FS, Monteiro EF, Holcman MM, Bajay MM, Pinter A, Camargo-Neves VLFd & Kirchgatter K (2021) Assessing diversity, *plasmodium* infection and blood meal sources in mosquitoes (Diptera: Culicidae) from a Brazilian Zoological Park with avian malaria transmission. *Insects* **12**:215.
- Hoyos J, Carrasquilla MC, León C, Montgomery J, Salyer S, Komar N & González C (2021) Host selection pattern and flavivirus screening of mosquitoes in a disturbed Colombian rainforest. *Scientific Reports* **11**:18656.
- Mirza JD, Guimarães LdO, Wilkinson S, Rocha E, Bertanhe M, Helfstein C, Telles de-Deus J, Claro I, Cumley N, Quick J, Faria N, Sabino E, Kirchgatter K & Loman N (2024) Tracking arboviruses, their transmission vectors and potential hosts by nanopore sequencing of mosquitoes. *Microbial Genomics* **10**:001184.
- Nagaki S, Chaves L, Mendoza López RV, Bergo E, Laporta G, Conn JE & Sallum MA (2021) Host feeding patterns of *Nyssorhynchus darlingi* (Diptera: Culicidae) in the Brazilian Amazon. *Acta Tropica* **213**:105751.
- Oliveira TMP, Laporta G, Bergo ES, Chaves L, Antunes JL, Bickersmith SA, Conn JE, Massa E & Sallum MA (2021) Vector role and human biting activity of Anophelinae mosquitoes in different landscapes in the Brazilian Amazon. *Parasites & Vectors* **12**:236.
- Pereira-Silva JW, Ríos-Velásquez CM, Lima GRd, Marialva dos Santos EF, Belchior HCM, Luz SLB, Naveca F & Pessoa FA (2021) Distribution and diversity of mosquitoes and Oropouche-like virus infection rates in an Amazonian rural settlement. *PLoS ONE* **16**:e0246932.

- Piedrahita S, Álvarez N, Naranjo-Díaz N, Bickersmith S, Conn JE & Correa M (2022) *Anopheles* blood meal sources and entomological indicators related to *Plasmodium* transmission in malaria endemic areas of Colombia. *Acta Tropica* **233**:106567.
- Requena-Zúñiga E, Chapilliquen-Alban F, Leon-Cueto W, Bances-Juarez F, Valle-Toledo J & Rojas-Jaime J (2024) First record of *Psorophora ferox* (Diptera: Culicidae) infested with eggs of *Dermatobia hominis* (Diptera: Cuterebridae), in Ucayali: Peru. *BMC Research Notes* **17**:98.
- Viteri D, Herrera-Varela M, Albuja M, Quiroga C, Diaz G, Morante CdA, Ramirez D, Vinetz J, Bickersmith S & Conn JE (2021) New records of *Anopheles benarrochi* B (Diptera: Culicidae) in malaria hotspots in the Amazon Regions of Ecuador and Peru. *Journal of Medical Entomology* **58**:1234-1240.

CAPÍTULO III

INGESTA SANGUÍNEA DE MOSQUITOS EN FUNCIÓN DEL USO DEL SUELO URBANO

En este capítulo se analiza la interacción entre los culícidos, sus hospedadores vertebrados y el ambiente urbano. Las preguntas que guían el capítulo son: ¿qué especies de culícidos hay en las urbanizaciones de Buenos Aires? ¿de qué se alimentan estas especies, es decir, a quiénes pican? ¿en qué proporciones? ¿se alimentan de lo mismo en los distintos usos del suelo urbano? ¿áreas domesticas y áreas verdes urbanas ofrecen distintos hospedadores vertebrados como recurso?

El crecimiento de la mancha urbana se está produciendo a un ritmo alarmante y está ejerciendo presión sobre los espacios verdes dentro de las ciudades, que están siendo cada vez más escasos en América Latina (Romanello et al. 2021). Mientras un mínimo de 9 m² de espacio verde por habitante es recomendado dentro de las áreas urbanas (Ramos et al. 2020), el promedio en la ciudad Capital de Argentina es de 6,3 m², con marcadas diferencias entre barrios (Marconi et al. 2022). Los espacios verdes urbanos desempeñan un rol central en las actividades recreativas, mejorando la calidad de vida de los ciudadanos (Groenewegen et al. 2006, Marconi et al. 2022). Sin embargo, varios estudios han reportado una gran diversidad de mosquitos en dichos espacios (de Carvalho et al. 2014, Hopken et al. 2021), incluyendo la presencia de especies de gran importancia epidemiológica como *Ae. albopictus* (Obame-Nkoghe et al. 2023), o la presencia ocasional de especies sobreabundantes, como *Ae. albifasciatus*, que interfieren con las actividades recreativas en estos entornos (Gallego et al. 2024). También se ha observado que la composición específica de mosquitos difiere entre espacios verdes y domésticos dentro de una misma mancha urbana (Blom et al. 2024, Kirik et al. 2021). En ambientes domésticos, se destacan algunas especies de gran relevancia epidemiológica como *Ae. aegypti* y los miembros del complejo *Cx. pipiens* (de Carvalho et al. 2014, Goodman et al. 2018, Rubio et al. 2024).

La comparación de la ingesta de sangre de los mosquitos entre distintos entornos urbanos es fundamental para comprender la relación entre mosquitos y hospedadores, y entender las redes de transmisión **de enfermedades infecciosas** que pueden afectar a los humanos, animales domésticos y la fauna silvestre dentro de las ciudades. Aunque una simple lista de hospedadores para cada especie de mosquito podría ser valiosa, se han utilizado diferentes enfoques para llegar a una comprensión más profunda de estas interacciones. Recientemente, las redes bipartitas se han aplicado con un enfoque epidemiológico para el estudio de las comunidades de “mosquito-hospedador” (Bellekom et al. 2021). Ésta consiste en dos conjuntos de nodos, uno para las especies de mosquitos y otro para los hospedadores vertebrados, con conexiones entre los nodos de conjuntos opuestos (Dormann et al. 2009). Estas redes se pueden utilizar para describir el papel central o periférico de los vertebrados que forman parte de los ciclos de transmisión, predecir las vías de transmisión de enfermedades e identificar vectores potenciales.

En nuestra región de estudio, la asociación entre las características del ambiente urbano y la distribución y abundancia de distintas especies de mosquitos reconocidas como vectores de enfermedades han sido previamente investigadas (e.g. Vezzani et al. 2001, 2005, Rubio et al. 2011, Cardo et al. 2018). Sin embargo, se desconocen los patrones de ingesta de la mayoría de las especies de mosquitos en el ambiente urbano. El presente capítulo tiene como objetivo comparar los patrones

de ingesta sanguínea de mosquitos entre áreas verdes y domésticas del ambiente urbano en localidades de distinto tamaño poblacional.

3.1 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.1 Área de estudio

El estudio se llevó a cabo en dos urbanizaciones de la zona templada de Argentina, el Área Metropolitana de Buenos Aires (AMBA) y la ciudad de Tandil, ubicada en el centro de la provincia de Buenos Aires. En el AMBA, segunda megalópolis de Sudamérica, el muestreo se realizó en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires (CABA; 34°36'S, 58°23'O), y en tres municipios vecinos al noroeste (San Isidro, Vicente López y San Martín). El AMBA cuenta con un promedio de 3,2m² de espacios verdes por habitante (Observatorio AMBA 2023). La región tiene un clima templado húmedo con marcada estacionalidad; la precipitación media anual es de 1.112 mm y la temperatura media es de 17,3 °C (Climate-data.org 2023). La superficie total que abarcan los cuatro municipios es de aproximadamente 341 km² y la población es de 4.153.234 habitantes (INDEC 2022). Tandil (37°04'S, 59°08'O) es una ciudad intermedia que cumple un rol estratégico entre las áreas rurales y las redes urbanas (Albaladejo et al. 2017, Migueltorena 2019). Esta localidad cuenta con 24,3m² de espacios verdes por habitante (Municipio de Tandil 2023) y una población total de 150.162 habitantes (INDEC 2022). Tiene una precipitación anual acumulada de 827 mm y una temperatura media anual de 14,2 °C (Climate-data.org 2023).

3.1.2 Trabajo de campo

Colecta de mosquitos. Las hembras de mosquitos se colectaron en dos periodos, de noviembre de 2019 a marzo de 2020 (primavera-verano) y de abril a mayo de 2021 (otoño) para incluir los picos de abundancia de las especies de mayor relevancia epidemiológica en la región. La temporada de otoño no pudo llevarse a cabo durante el año 2020, debido a las restricciones de circulación por el COVID-19. Los sitios de colecta fueron viviendas, cementerios, centros hípicos, parques y reservas naturales, los cuales fueron agrupados en función de la presencia permanente u ocasional de humanos durante el día y según el uso dado por las personas, lo que podría modificar la composición de mosquitos y vertebrados. Las viviendas, los cementerios y los centros hípicos fueron clasificados como áreas

domésticas; estos sitios presentan contenedores artificiales, superficies impermeables y estructuras edilicias. Los parques y reservas naturales se denominaron áreas verdes, que se distinguen por carecer de contenedores artificiales y edificaciones, y por presentar una cobertura herbácea predominante.

Respecto a las áreas domésticas, las colectas de mosquitos se realizaron tanto en interiores como en exteriores. Los espacios interiores incluyeron salones, cocinas y baños en las viviendas; oficinas, baños públicos y galerías en los cementerios, y establos para caballos, cobertizos (para almacenar herramientas y heno) y baños públicos en los centros hípicos. Los espacios exteriores domésticos incluían patios, áreas con vegetación, alrededores de las casas, potreros y zonas entre tumbas. En parques y reservas naturales, dado que no había espacios interiores, el muestreo se llevó a cabo únicamente en exteriores, principalmente entre la vegetación. Los sitios de muestreo incluyeron un total de 16 áreas domésticas (10 viviendas, 3 cementerios, 3 centros hípicos) y seis áreas verdes (3 parques y 3 reservas naturales) en AMBA, y cuatro viviendas y siete parques en Tandil. Los muestreos no fueron sistematizados; sin embargo, **al menos una vez al mes durante los dos períodos de colecta, se inspeccionaron todos los sitios del AMBA y Tandil.**

Método de colecta. En cada sitio, se realizó una búsqueda activa de mosquitos adultos en reposo entre las 7:00 y las 15:00 horas utilizando aspiradores manuales (Silver 2008) y aspiradora-mochila a batería adaptada de Vázquez-Prokopec et al. (2009). En esta última, a diferencia del diseño original, se utilizó una batería de gel (12V 4.5AH) y un motor de ventilación (modelo TA-450-DC-L-12v1). Se realizaron entre cuatro y ocho aspiraciones, cada una con una duración de 5 min según el tamaño y las características de cada sitio. Los mosquitos colectados fueron transportados hasta el laboratorio en una nevera eléctrica de 12V a 5-10°C para minimizar la digestión de la sangre.

3.1.3 Trabajo de laboratorio

Procesamiento de mosquitos. Las identificaciones taxonómicas de los mosquitos se realizaron en el laboratorio de entomología del Instituto de Investigación e Ingeniería Ambiental de la Universidad Nacional de San Martín (3iA-UNSAM) y en el laboratorio del Instituto Ecosistemas de la Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA). Luego, todos los procedimientos moleculares se realizaron en el primero mencionado. Dentro de un máximo de 24 hs después de cada colecta, los mosquitos fueron sacrificados mediante congelación durante aproximadamente 10 min. Las hembras con ingesta de sangre fueron separadas por campaña/sitio e identificadas morfológicamente a nivel de especie bajo un estereomicroscopio de 80x utilizando claves dicotómicas para la región (Rossi et al. 2002), con la excepción de los miembros del complejo *Cx. pipiens*, que fueron identificados adicionalmente mediante técnicas moleculares (ver más abajo). En

Argentina, se ha documentado la presencia de *Cx. quinquefasciatus* en zonas subtropicales a templadas y, *Cx. pipiens* en regiones templadas a frías. Esta última presenta dos bioformas, *pipiens* y *molestus*. En las zonas de simpatria donde convergen ambos miembros, se registran híbridos (Cardo et al. 2020, Cardo et al. 2023, Cardo et al. 2024). Los miembros del complejo *Cx. pipiens* presentan diferencias ecofisiológicas, entre ellas los patrones de ingesta sanguínea, con amplias implicaciones en la transmisión de enfermedades (Farajollahi et al. 2011). Por lo tanto, la identificación taxonómica de estos mosquitos por técnicas moleculares, así como el análisis de su ingesta de sangre, es crucial para comprender su rol como vectores. Aunque el estatus taxonómico de los miembros del complejo aún es motivo de debate (Harbach 2012), para el propósito de los resultados presentados en este documento, *Cx. quinquefasciatus* y ambas bioformas de *Cx. pipiens* serán referidas como "especies" en un sentido general.

El grado de digestión de cada ingesta sanguínea se estimó visualmente en función del color y tamaño de la sangre ingerida, así como de la presencia de huevos en el abdomen. Esta estimación se clasificó según la escala Sella siguiendo a Santos et al. (2019). Las hembras clasificadas entre II y VI se colocaron individualmente en tubos Eppendorf de 1,5 ml que contenían etanol al 96% y se almacenaron a -20 °C. Antes de la extracción de ADN (ver más abajo), a cada hembra con ingesta de sangre se le removió el abdomen del resto del cuerpo utilizando un estereomicroscopio de 80x, una placa de Petri de vidrio esterilizada con etanol al 96% y pinzas entomológicas esterilizadas al fuego para evitar la transferencia de ADN de un espécimen a otro.

Identificación taxonómica de los miembros del complejo *Culex pipiens*. Para identificar los miembros del complejo *Cx. pipiens*, se extrajo ADN de la cabeza, el tórax y las patas de cada hembra con ingesta sanguínea, utilizando uno de los siguientes métodos: 1) Extracción de ADN con hidróxido de amonio 4 M siguiendo a Vogels et al. (2016) y 2) Extracción de ADN utilizando el kit de extracción de ADN genómico EasyPure® (Transgen Biotech). El primer método, más económico, se utilizó para sitios con muchos especímenes (n>20 individuos con ingesta de sangre por especie), mientras que el segundo método se reservó para sitios con escasos ejemplares (<20).

La identificación de los especímenes (bioformas *Cx. pipiens*, *Cx. quinquefasciatus* y sus híbridos) siguió los protocolos de PCR de Smith & Fonseca (2004) para la amplificación del segundo intrón del gen nuclear de la acetilcolinesterasa-2 (protocolo I) y, de Bahnck & Fonseca (2006) para la región flanqueante 5' del locus CQ11 de los microsatélites de estas especies (protocolo II). El primer protocolo amplifica una banda de 610 pb para *Cx. pipiens* y una banda da 274 pb para *Cx. quinquefasciatus*, mientras que la presencia simultánea de ambas bandas indica formas híbridas. El

protocolo II distingue entre ambas formas de *Cx. pipiens*, amplificando una banda de 250 pb para *molestus* y una banda de 190-200 pb para *pipiens*; nuevamente, la presencia de ambas bandas indica formas híbridas. Como resultado de la reactividad cruzada de cebadores, *Cx. quinquefasciatus* amplifica un producto de PCR de tamaño similar al de *Cx. pipiens molestus* en el protocolo II; por lo tanto, el uso combinado de ambos es necesario en áreas de simpatría. En todas las pruebas se incluyeron un control negativo (agua destilada) y controles positivos de *Culex pipiens pipiens* (Francia), *Cx. pipiens molestus* (Inglaterra) y *Cx. quinquefasciatus* (Indonesia). Los controles positivos fueron cortésmente proporcionados por la Dra. Dina Fonseca. Se realizó una electroforesis de una alícuota de 5 µL de cada producto amplificado mezclado con 1 µL de buffer de carga 6X en geles de agarosa al 1,5% (protocolo I) y al 2% (protocolo II) que contenía bromuro de etidio (0,5 ug/mL) y buffer TBE 0,5X. Las bandas se visualizaron bajo un transiluminador UV. Para permitir la estimación del tamaño de las bandas observadas, se corrieron en paralelo marcadores moleculares de ADN (PBL®) con una precisión de 50 y 100 pb para los protocolos I y II, respectivamente.

Identificación de la ingesta sanguínea. Los métodos actuales de análisis de la ingesta sanguínea se basan principalmente en la PCR y la secuenciación de Sanger. En general, el ADN del hospedador se extrae de una ingesta de sangre, se amplifica un fragmento taxonómicamente informativo del ADN del hospedador mediante PCR y se secuencia, y la secuencia resultante se compara con una base de datos de referencia de secuencias de ADN (Kent 2009).

⇒ **Extracción de ADN.** El ADN del hospedador fue aislado de hembras individuales con ingesta de sangre adaptando el protocolo HotShot desarrollado por Truett et al. (2000). Utilizando pinzas entomológicas esterilizadas, se extrajo el abdomen de cada hembra analizada y se colocó entero pelado en Eppendorf de 1,5 mL conteniendo 50 µL de buffer de lisis (NaOH 25 mM + EDTA 0,2 mM, pH 12,0). A continuación, las muestras se incubaron en un baño de bloque seco a 95 °C durante 30 min y luego se colocaron en un baño de hielo durante cinco min. Luego, a cada muestra se adicionó 50 µL de buffer neutro (Tris-HCl 40 mM, pH 5,0) y se homogeneizó con micropipeta y tip estéril. Finalmente, las muestras se conservaron a -20 °C hasta ser amplificadas por PCR.

⇒ **Amplificación por PCR.** El ADN extraído se utilizó como templado en la PCR para identificar los hospedadores vertebrados. Se utilizaron secuencias de cebadores publicadas

previamente Mod_RepCOI_F (5'-TNTTYTCMACYAACCACAAAGA-3') y VertCOI_7216_R (5'-CARAAGCTYATGTTRTTYATDCG-3'), que amplifican un fragmento de aproximadamente 244 pb del gen mitocondrial COI (Reeves et al. 2018). Cada PCR se realizó en un volumen total de 30 µl, conformado por 3 µl de ADN y 27 µl de mezcla de PCR. Cada mezcla contenía 18,15 µl de agua destilada estéril, 3 µl de buffer de reacción 10X, 1,125 µl de cebador forward [10 µM], 1,125 µl de cebador reverse [10 µM], 2,4 µl de dNTPs 10mM, 0,9 µl de MgCl₂, 0,3 µl de Taq ADN polimerasa. Las condiciones de ciclado incluyeron una fase inicial a 94 °C por 3 min, seguida de 40 ciclos de 94 °C por 40 seg, 48,5 °C por 30 seg y 72 °C por 60 seg, y un paso de extensión final de 72 °C durante 7 min según el protocolo descrito por Reeves et al. (2018). En todas las reacciones se incluyeron dos controles: 1) un control negativo en el que se reemplazó el ADN extraído por agua destilada estéril para monitorear posibles contaminaciones, y 2) controles positivos que comprendían dos vertebrados, un ave (*Zenaida auriculata*) y un mamífero (*Homo sapiens*). Para cada producto de PCR, se cargaron 5 µL junto con 1 µL de buffer de carga 6X en un pocillo de un gel de agarosa al 1,5% teñido con bromuro de etidio (0,5 µg/mL), y se sometieron a electroforesis durante aproximadamente 30 min a 90 V. Posteriormente, los productos de reacción se visualizaron en un transiluminador UV para determinar el éxito de la amplificación. Se utilizó un marcador de peso molecular de ADN (PBL®) con una precisión de 50 pb cargado junto con los productos de PCR para determinar por comparación si la amplificación fue exitosa en función de la presencia de una banda cercana a la longitud del fragmento esperado (244 pb). Las bandas en el gel fueron clasificadas con o sin amplificación según la presencia de las bandas en el tamaño de fragmento esperado. Los productos de todas las PCR exitosas se enviaron a Macrogen Korea para su purificación y secuenciación de ADN.

⇒ **Análisis de las secuencias.** Los resultados de la secuenciación se analizaron utilizando el software ApE versión 0.55 (Davis 2021). Primero, se realizó la limpieza de secuencias para cada identificación de sangre, eliminando las primeras 15-20 bases de los cromatogramas, así como las 10-50 bases del extremo 3', ya que ambas regiones contenían llamadas de bases ambiguas y no eran confiables para la interpretación. La secuencia recortada se comparó luego con la base de datos de secuencias de ADN de GenBank (NCBI 2022). Se asignó una identidad taxonómica a nivel de especie a una secuencia si era >98% similar a una secuencia referenciada en la base de datos.

3.1.4 Análisis de datos

Se construyó una red bipartita para cada ambiente urbano (áreas domésticas y áreas verdes) del AMBA y de Tandil. Se elaboraron cuatro matrices ponderadas de interacción, con las especies de mosquitos en las filas y las especies de vertebrados en las columnas. Las colectas mensuales se agruparon y el valor en cada celda de la matriz fue el número total de ingestas de sangre identificadas de cada especie de vertebrado para cada especie de mosquito durante todo el período de muestreo. Para caracterizar la estructura de las redes de interacción se utilizaron los siguientes índices: (1) conectancia (connectance en inglés), es la proporción realizada de enlaces posibles, calculada como la relación entre el número real de vínculos (es decir, interacciones por pares entre especies) y el número máximo de enlaces (Dunne et al. 2002); (2) H2: especialización a nivel de red, mide la especialización complementaria, que ocurre cuando una especie o grupo de especies de mosquitos se alimenta selectivamente de una especie o grupo de especies de vertebrados, y oscila entre 0 (sin especialización) y 1 (completamente especializada) (Blüthgen et al. 2006); y (3) anidamiento basado en la superposición pareada y la disminución del relleno (NODF, por sus siglas en inglés), es una métrica de anidamiento que considera la superposición entre pares de nodos; varía entre 0 (no anidamiento) y 100 (anidamiento completo), mientras que los valores intermedios indican asociaciones aleatorias (Almeida-Neto et al. 2008).

La significancia de las métricas mencionadas se determinó mediante la comparación de los valores observados para cada red con las estimaciones esperadas según 1000 matrices generadas con una distribución aleatoria de las interacciones manteniendo los valores marginales fijos (modelos nulos; Patefield 1981). Se calcularon los Z-scores para cuantificar la significancia estadística de cada métrica observada en comparación con la distribución de valores del modelo nulo, calculados para cada índice como:

$$z_{\text{índice}ij} = (I_{\text{observado}ij} - \text{media}(I_{\text{nulo_modelo}ij})) / \text{sd}(I_{\text{nulo_modelo}ij})$$

siendo i cada índice (conectancia, H2, NODF) y j AMBA-doméstico, AMBA-verde, Tandil-doméstico o Tandil-verde. Cada valor observado se graficó frente a la distribución de valores aleatorios y luego se probó cuánta desviación estándar tenía cada métrica observada de la media de los valores de los modelos nulos, asumiendo una distribución Gaussiana.

También se calcularon los siguientes índices a nivel de especie. La fuerza de interacción de las especies se obtuvo para los hospedadores vertebrados con el fin de cuantificar la relevancia de una

especie entre todos sus asociados, oscilando entre 0 (relevancia mínima) y el número de especies en el otro grupo (relevancia máxima) (Bascompte et al. 2006). Para las especies de mosquitos, se calculó el índice de diferencias pareadas (PDI), este es un estimador ponderado del número de interacciones de cada especie de mosquito con el nivel de vertebrados y toma valores entre 0 (generalista) y 1 (especialista) (Poisot et al. 2011). También se calculó el número efectivo de vertebrados picados por cada especie de mosquito utilizando el índice de especies asociadas efectivas. Este índice puede variar desde 1 (valor mínimo), indicando la presencia de una única especie en la comunidad (ausencia total de diversidad), hasta el número total de especies observadas, representando el valor máximo. Este último valor, puede ser igual al número de especies observadas si todas las especies están igualmente representadas en términos de abundancia, reflejando una distribución equitativa.

3.2 RESULTADOS

3.2.1 Composición y abundancia relativa de mosquitos

En total, se colectaron 329 hembras con ingesta de sangre (264 ejemplares en AMBA y 65 en Tandil). En el AMBA, los especímenes pertenecían a 10 especies de mosquitos, siendo el 73,1% (193 ejemplares) miembros del complejo *Cx. pipiens*, seguidos de *Ae. albifasciatus* (11%), *Ae. aegypti* (8%), *Culex apicinus* (3%), *Culex chidesteri* (2%), *Aedes crinifer* (1%) y *Culex maxi* (1%), todos presentes tanto en áreas domésticas como en áreas verdes. Las hembras alimentadas de *Cx. bidens*, *Culex dolosus* y *Culex lahillei* fueron colectadas exclusivamente en áreas verdes, comprendiendo menos del 1% del total de colectas para cada especie (Tabla 3.1). En Tandil, se colectaron cinco especies de mosquitos; *Ae. albifasciatus* representó el 34% del total de capturas con ingesta y fue la única especie colectada en áreas verdes, mientras que en las áreas domésticas fueron colectados los miembros del complejo *Cx. pipiens* (31%), *Ae. aegypti* (19%), *Cx. apicinus* (13%) y *Cx. dolosus* (3%) (Tabla 3.1). La identificación de los miembros del complejo *Cx. pipiens* fue exitosa para 57 de las 66 hembras con ingesta sanguínea (AMBA: 44/52, Tandil: 13/14). En ambas urbanizaciones se identificaron *Cx. quinquefasciatus*, *Cx. pipiens molestus* y el híbrido entre ambas, aunque en diferentes proporciones; no se colectó ningún ejemplar de *Cx. pipiens pipiens* (Tabla 3.1).

3.2.2 Identificación de la ingesta de sangre

Se identificaron 103 ingestas sanguíneas, 58 del AMBA y 45 de Tandil (Tabla 3.1); los especímenes restantes no mostraron una banda visible en el análisis de PCR. En total, se identificó sangre de 23 especies de vertebrados (18 aves, 5 mamíferos) en ingestas de *Ae. aegypti*, *Ae. albifasciatus*, *Cx. apicinus*, *Culex bidens*, *Cx. chidesteri*, *Cx. dolosus*, *Cx. lahillei* y los miembros del complejo *Cx. pipiens* (Figura 3.1). Ninguna de las ingestas de *Ae. crinifer* (n = 3) y *Cx. maxi* (n = 2) pudo ser identificada.

Tabla 3.1 Número de hembras con ingesta de sangre colectadas [y número de ingestas de sangre identificadas] por especie de mosquito en áreas domésticas y áreas verdes del Área Metropolitana de Buenos Aires (AMBA) y Tandil, Argentina.

Especies	AMBA		Tandil	
	Áreas domésticas	Áreas verdes	Áreas domésticas	Áreas verdes
<i>Aedes aegypti</i>	21 [0]	1 [0]	12 [11]	-
<i>Aedes albifasciatus</i>	20 [0]	8 [0]	10 [7]	12 [8]
<i>Aedes crinifer</i>	1 [0]	2 [0]	-	-
<i>Culex apicinus</i>	6 [1]	1 [1]	9 [4]	-
<i>Culex bidens</i>	-	2 [1]	-	-
<i>Culex chidesteri</i>	1 [0]	4 [0]	-	-
<i>Culex dolosus</i>	-	1 [0]	2 [1]	-
<i>Culex lahillei</i>	-	1 [1]	-	-
<i>Culex maxi</i>	1 [0]	1 [0]	-	-
<i>Culex pipiens</i> s.l.*	144 [38]	49 [14]	20 [14]	-
<i>Culex pipiens molestus</i>	[2]	[2]	[11]	-
<i>Culex quinquefasciatus</i>	[27]	[8]	[1]	-
Híbrido**	[4]	[1]	[1]	-
Sin diferenciar	[5]	[3]	[1]	-
TOTAL	194 [39]	70 [19]	53 [37]	12 [8]

*indica los miembros del complejo *Cx. pipiens*.

** forma híbrida entre *Cx. pipiens molestus* y *Cx. quinquefasciatus*.

(-) No se colectó; [0] No se identificó.

Referencias		Aedes		Culex							
AMBA Tandil		Ae. aegypti	Ae. albifasciatus	Cx. apicinus	Cx. chidesteri	Cx. dolosus	Cx. lahillei	Cx. bidens	Cx. pipiens s.l.	Cx. pipiens molestus	Cx. quinquefasciatus
doméstico											
áreas verdes											
Mamíferos	Homo sapiens										
	Bos taurus										
	Canis lupus										
	Felis catus										
	Myocastor coypus										
Aves	Aramides cajanea										
	Colaptes melanochloros										
	Columba livia										
	Furnarius rufus										
	Gallus gallus										
	Icterus cayanensis										
	Leptotila verreauxi										
	Mimus saturninus										
	Agelaioides badius										
	Myiopsita monachus										
	Nycticorax nycticorax										
	Parabuteo unicinctus										
	Passer domesticus										
	Patagioenas picazuro										
	Sturnus vulgaris										
	Troglodytes aedon										
	Turdus rufiventris										
	Zenaida auriculata										

Figura 3.1 Fuentes de ingesta sanguínea de mosquitos colectados en áreas domésticas y verdes del Área Metropolitana de Buenos Aires (AMBA) y Tandil, Argentina.

En el AMBA, se identificó sangre de 20 especies de vertebrados (17 aves, 3 mamíferos) de seis especies de mosquitos más el híbrido entre *Cx. quinquefasciatus* y *Cx. pipiens molestus* (Figura 3.1). Las aves estuvieron representadas por 13 familias (Ardeidae, Accipitridae, Columbidae, Furnariidae, Icteridae, Mimidae, Picidae, Phasianidae, Psittacidae, Rallidae, Sturnidae, Troglodytidae, Turdidae). En áreas domésticas (n = 39), se identificaron 36 ingestas sanguíneas de 10 especies de aves; *Zenaida auriculata* (Columbiformes: Columbidae) (14), *Turdus rufiventris* (Passeriformes: Turdidae) (6), *Mimus saturninus* (Passeriformes: Mimidae) (5), *Patagioenas picazuro* (Columbiformes: Columbidae) (3), *Furnarius rufus* (Passeriformes: Furnariidae) (2), *Troglodytes aedon* (Passeriformes: Troglodytidae) (2), *Icterus cayanensis* (Passeriformes: Icteridae) (1), *Sturnus vulgaris* (Passeriformes: Sturnidae) (1), *Gallus gallus* (Galliformes: Phasianidae) (1) y *Leptotila verreauxi* (Columbiformes: Columbidae) (1). En áreas verdes (n = 19), se identificaron 18 ingestas sanguíneas de 11 especies de aves; *Z. auriculata* (5), *Columba livia* (Columbiformes: Columbidae) (2), *Myiopsitta monachus* (Psittaciformes: Psittacidae) (2), *T. rufiventris* (2), *Ageloides badius* (Passeriformes: Icteridae) (1), *Aramides cajanea* (Gruiformes: Rallidae) (1), *Colaptes melanochloros* (Piciformes: Picidae) (1), *M. saturninus* (1), *Nycticorax nycticorax* (Ciconiiformes: Ardeidae) (1), *P. picazuro* (1) y *Parabuteo unicinctus* (Accipitriformes: Accipitridae) (1). Respecto a los mamíferos, *Canis lupus* (Carnivora: Canidae) (2) y *Felis catus* (Carnivora: Felidae) (1) fueron identificados a partir de especímenes de *Cx. quinquefasciatus* colectados en áreas domésticas, mientras que *Myocastor coypus* (Rodentia: Echimyidae) (1) fue encontrado en un espécimen de *Cx. pipiens molestus* de áreas verdes (Figuras 3.1 y 3.2).

En Tandil, se identificó sangre de seis especies de vertebrados (3 aves, 3 mamíferos) de seis especies de mosquitos más el híbrido entre *Cx. quinquefasciatus* y *Cx. pipiens molestus* (Figuras 3.1 y 3.3). Las aves estuvieron representadas por tres familias (Columbidae, Passeridae y Troglodytidae). En áreas domésticas (n = 37), se registraron siete ingestas de sangre de aves, la mayoría de ellas correspondientes a *Z. auriculata* (5) y una única ingesta de sangre de *Passer domesticus* (Passeriformes: Passeridae) y *T. aedon* (Figuras 3.1 y 3.3). Entre los mamíferos, 29 muestras correspondieron a *Homo sapiens* (Primates: Hominidae) aisladas de *Ae. aegypti* (11), *Ae. albifasciatus* (6) y el complejo *Cx. pipiens*, y *Bos taurus* (Artiodactyla: Bovidae) en una ingesta de *Ae. albifasciatus*. En áreas verdes (n = 8), se identificó sangre de tres especies de mamíferos: *H. sapiens* (4), *B. taurus* (3) y *C. lupus* (1) (Figuras 3.1 y 3.3).

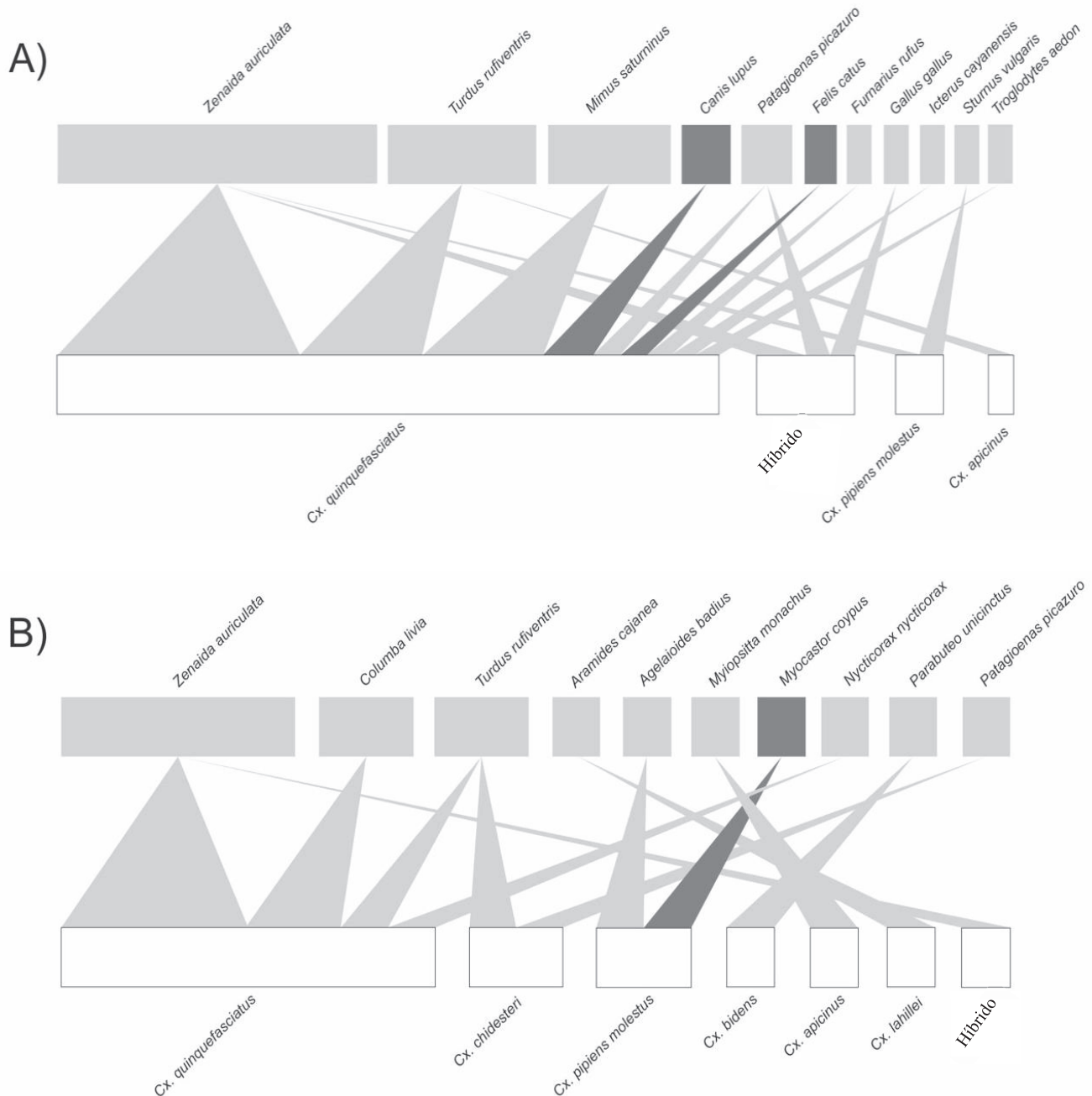


Figura 3.2 Redes bipartitas de comunidades de mosquitos (nivel inferior) y sus hospedadores vertebrados (nivel superior) en áreas domésticas (A) y verdes (B) del AMBA (Argentina) de noviembre a mayo de 2019-2020 y de abril a mayo de 2021-2021. En el nivel inferior, las especies de *Culex* están representadas en blanco. Los colores del nivel superior son gris oscuro para los hospedadores mamíferos y gris claro para los hospedadores aviares. El grosor de las líneas de conexión indica la fuerza de las interacciones (número de ingestas sanguíneas identificadas).

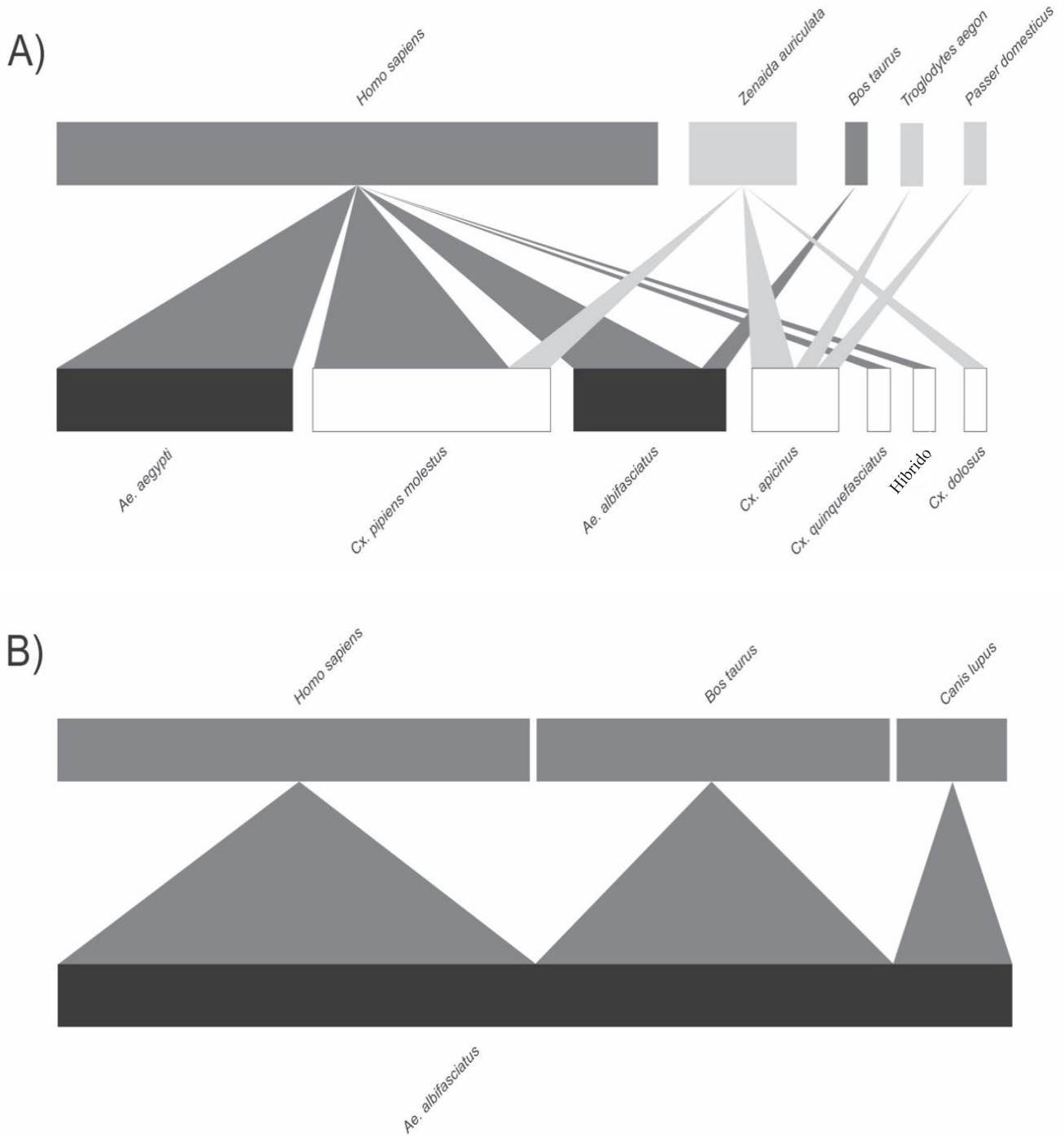


Figura 3.3 Redes bipartitas de comunidades de mosquitos (nivel inferior) y sus hospedadores vertebrados (nivel superior) en áreas domésticas (A) y verdes (B) de Tandil (Argentina) de noviembre a mayo de 2019-2020 y de abril a mayo de 2021-2021. Los colores de nivel inferior son negro para las especies de *Aedes* y blanco para las especies de *Culex*. Los colores de superior alto son gris oscuro para los hospedadores mamíferos y gris claro para los hospedadores aviares. El grosor de las líneas de conexión indica la fuerza de las interacciones (número de ingestas sanguíneas identificadas).

3.2.3 Redes de interacción mosquito-hospedador

En el AMBA, la red de interacción mosquito-hospedador en áreas verdes estuvo compuesta por más especies de mosquitos que en áreas domésticas, aunque ambos presentaron un número similar de hospedadores vertebrados (Figura 3.2). En contraste, en Tandil, la red de interacción en áreas domésticas estuvo compuesta por más especies tanto de mosquitos como de hospedadores vertebrados, incluyendo mamíferos y aves, en comparación con las áreas verdes. En éstas últimas, la red fue extremadamente pequeña y estuvo conformada por una única especie de mosquito colectada con ingesta (Figura 3.3), lo que impidió el cálculo de índices de red.

En el AMBA, la proporción de enlaces realizados fue menor en áreas verdes que en domésticas, como lo reflejan los valores de conectancia (Tabla 3.2). Para áreas verdes del AMBA y áreas domésticas de Tandil, el índice de conectancia obtenido fue inferior a la distribución de valores simulados por los modelos nulos, lo que sugiere cierto grado de selección de hospedador. En concordancia, la métrica $H2$ fue superior a la esperada por azar, mientras que la estimación del índice NODF observado no difirió significativamente de la esperada por azar (Tabla 3.2).

A nivel de especie, en ambos ambientes del AMBA *Cx. quinquefasciatus* exhibió el valor más bajo de PDI y el valor más alto de especies asociadas efectivas, lo que sugiere un patrón de ingesta generalista (Tabla 3.2, Figura 3.2). En Tandil, se observó un patrón similar para *Cx. apicinus*, que estaba más conectado, pero exclusivamente con hospedadores aviares, y presentó el valor más bajo de PDI y el valor más alto de especies asociadas efectivas (Tabla 3.2, Figura 3.3). Las especies de *Aedes* presentaron un alto número de ingestas de sangre identificadas exclusivamente de mamíferos, en particular, *Ae. aegypti* exhibió una especialización por humanos (Tabla 3.2). Cabe destacar que, en Tandil, la especie más conectada dentro del complejo *Cx. pipiens* fue *Cx. pipiens molestus*.

Respecto a los hospedadores vertebrados, en ambas áreas del AMBA, dos especies de aves, *Z. auriculata* y *T. rufiventris*, presentaron los valores de fuerza de interacción más altos. En contraste, en áreas domésticas de Tandil, *H. sapiens* parece ser la fuente de sangre clave para los mosquitos entre otros animales, con el valor de fuerza más alto, seguido por *Z. auriculata* (Tabla 3.3).

Tabla 3.2 Caracterización de las interacciones entre mosquitos y hospedadores en áreas domésticas y verdes del Área Metropolitana de Buenos Aires (AMBA) y Tandil, Argentina.

	AMBA		Tandil	
	Áreas domésticas	Áreas verdes	Áreas domésticas	Áreas verdes
<i>Nivel de red</i>				
Conectancia	0,34	0,17 ^a	0,31 ^a	^c
H2	0,33	0,54 ^b	0,54 ^b	^c
NODF	41,26	9,85	38,17	^c
<i>Nivel de especies</i>				
PDI asociadas efectivas				
<i>Aedes aegypti</i>			1 1	
<i>Aedes albifasciatus</i>			0,95 1,5	0,50 2,65
<i>Culex apicinus</i>	1 1	1 1	0,75 2,83	
<i>Culex bidens</i>		1 1		
<i>Culex chidesteri</i>		0,89 2		
<i>Culex dolosus</i>			1 1	
<i>Culex lahillei</i>		1 1		
<i>Culex pipiens molestus</i>	0,90 2	0,89 2	0,94 1,31	
<i>Culex quinquefasciatus</i>	0,83 6,02	0,89 3,36	1 1	
Híbrido*	0,90 2,83	1 1	1 1	

Los índices a nivel de red son: conectancia, especialización a nivel de red (H2) y anidamiento basado en la superposición pareada y la disminución del relleno (NODF); los índices a nivel de especie de mosquito son el índice de diferencias pareadas (PDI) y las especies asociadas efectivas.

* Forma híbrida entre *Cx. pipiens molestus* y *Cx. quinquefasciatus*.

^a Menor de lo esperado en comparación con los modelos nulos.

^b Mayor de lo esperado en comparación con los modelos nulos.

^c No es posible calcular el índice debido al tamaño de la red.

Tabla 3.3. Fuerza de las interacciones entre especies de vertebrados y mosquitos en áreas domésticas y verdes del Área Metropolitana de Buenos Aires (AMBA) y Tandil, Argentina.

Especies	AMBA		Tandil	
	Áreas domésticas	Áreas verdes	Áreas domésticas	Áreas verdes
Mamíferos				
<i>Homo sapiens</i>			4,675	
<i>Bos taurus</i>			0,143	0,375
<i>Canis lupus</i>	0,074			0,125
<i>Felis catus</i>	0,037			0,5
<i>Myocastor coypus</i>		0,5		
Aves				
<i>Aramides cajanea</i>		1		
<i>Columba livia</i>		0,25		
<i>Furnarius rufus</i>	0,037			
<i>Gallus gallus</i>	0,25			
<i>Icterus cayanensis</i>	0,037			
<i>Mimus saturninus</i>	0,185			
<i>Molothrus badius</i>		0,5		
<i>Myiopsitta monachus</i>		1		
<i>Nycticorax nycticorax</i>		0,125		
<i>Parabuteo unicinctus</i>		1		
<i>Passer domesticus</i>			0,25	
<i>Patagioenas picazuro</i>	0,287	0,5		
<i>Sturnus vulgaris</i>	0,5			
<i>Troglodytes aedon</i>	0,037		0,25	
<i>Turdus rufiventris</i>	1,185	0,625		
<i>Zenaida auriculata</i>	1,37	1,5	1,682	

3.3 DISCUSIÓN

En este capítulo se compararon los patrones de ingesta sanguínea de mosquitos entre usos del suelo urbano con características contrastantes en urbanizaciones de distinto tamaño poblacional. Se presentan los primeros datos en Sudamérica sobre la identificación de la ingesta sanguínea de *Ae. aegypti* y *Cx. bidens*, y en particular los primeros registros de ingesta de sangre humana de *Ae. aegypti*, *Ae. albifasciatus* y *Cx. pipiens molestus* (ver Anexo 2.2). Entre los hospedadores identificados, los mamíferos representaron el 41% del total de las ingestas, siendo éstas de humano (*H. sapiens*), vaca (*B. taurus*), perro (*C. lupus*), gato (*F. catus*) y coipo (*M. coypus*). Respecto a los hospedadores aviares, las especies mejor representadas fueron la paloma torcaza (*Z. auriculata*) y el zorzal colorado (*T. rufiventris*).

Los mosquitos del género *Aedes* se alimentaron exclusivamente de mamíferos. Aunque muchos estudios han demostrado la preferencia de *Ae. aegypti* por los humanos en otras regiones (e.g. Pruszyński et al. 2020) y su rol central como vector de flavivirus, en Sudamérica no se habían realizado estudios previos en especímenes colectados en campo (ver Anexo 2.2). Aquí, los humanos fueron la única fuente de ingesta de sangre identificada para esta especie. *Ae. albifasciatus* fue la única especie con ingesta de sangre colectada en áreas verdes y domésticas de ambas urbanizaciones. Las ingestas identificadas fueron **exclusivamente** de humanos, vacas y perros, en concordancia con resultados previos obtenidos en el país (Hack et al. 1978, Cardo & Vezzani 2023).

Respecto a los miembros del complejo *Cx. pipiens*, el presente capítulo aporta evidencia de que las especies presentes en la región se alimentan de diversos vertebrados incluyendo mamíferos, aves silvestres y domésticas. Para *Cx. pipiens molestus*, se identificaron por primera vez a humano, coipo, paloma torcaza, estornino pinto (*S. vulgaris*) y tordo músico (*A. badius*) como hospedadores. A su vez, para *Cx. quinquefasciatus* los nuevos registros de hospedadores corresponden exclusivamente a especies de aves, i.e., paloma doméstica (*C. livia*), hornero común (*F. rufus*), turpial boyerito (*I. cayanensis*), garza bruja (*N. nycticorax*) y ratona común (*T. aedon*). De las 18 especies de aves identificadas como hospedadores en el presente capítulo, ocho han sido encontradas naturalmente infectadas con los virus de la ESL y del NO y cuatro solo con ESL (Díaz et al. 2011, 2018). En el AMBA, la paloma torcaza y el zorzal colorado mostraron las mayores interacciones con los mosquitos (i.e. mayores valores de fuerza), mientras que en Tandil, la paloma torcaza fue el segundo hospedador clave, después del humano. El bajo número de ingestas de sangre identificadas de *Cx. apicinus*, *Cx. bidens*, *Cx. chidesteri*, *Cx. dolosus* y *Cx. lahillei* no permite establecer patrones para estas especies.

Los índices de conectancia y H2 obtenidos para las áreas verdes del AMBA y las áreas domésticas de Tandil indicaron la ocurrencia de patrones agregados y sugirieron cierto grado de selección de

hospedadores; los mosquitos del género *Aedes* tendieron a alimentarse de mamíferos, mientras que los mosquitos *Culex* mostraron patrones de alimentación oportunistas. Además, en ambos ambientes del AMBA, los índices calculados a nivel de especie indicaron que *Cx. quinquefasciatus* fue el mosquito menos especializado, lo que sugiere un patrón de alimentación generalista. En Tandil, se observó un patrón similar para *Cx. apicinus* que estuvo más conectado, pero exclusivamente con especies de aves. Aunque algunas especies de mosquitos presentaron un comportamiento especialista como *Ae. aegypti* que se alimentó exclusivamente de humanos y presenta un rol clave en la transmisión de **enfermedades vectoriales**, las especies generalistas también podrían ser relevantes en salud. Estas últimas, son señaladas como vectores puente en infecciones zoonóticas, al transmitir patógenos de un hospedador reservorio a otros hospedadores susceptibles (Gratz 2004, Hoyos et al. 2021). En este escenario, la red de interacción mosquito-hospedador en distintos usos del suelo urbanos estaría en parte determinada por la composición de la comunidad de mosquitos, que a su vez está influenciada por la diversidad de hábitats acuáticos disponibles; e.g. tipo y estabilidad de los cuerpos de agua y estrategias de oviposición de los mosquitos (Cardo et al. 2011, 2012). Aunque algunas especies a menudo vuelan distancias largas (5 a 10 km) en busca de un hospedador potencial o hábitat larval (Charlwood et al. 1988, Goodman et al. 2018), una ingesta de sangre representa una carga pesada para un mosquito en términos de su capacidad de dispersión. En consecuencia, después de alimentarse los especímenes suelen permanecer a menos de 1 km de su fuente de ingesta sanguínea (Orsborne et al. 2019, Hernández-Colina et al. 2021).

Entre las limitaciones de las investigaciones presentadas en este capítulo se encuentra, en primer lugar, la falta de amplificación de las ingestas de sangre en mosquitos del género *Aedes* en el AMBA. Esto podría deberse a tiempos de almacenamiento prolongados que afectaron el rendimiento de la PCR. En segundo lugar, este estudio utilizó todos los mosquitos cuyos abdómenes contenían sangre en distintas cantidades. Los mosquitos colectados en el AMBA presentaron índices Sella entre II y VI, mientras que la mayoría de los mosquitos colectados en Tandil tenían el abdomen lleno (índice Sella II). Se ha reportado que el índice Sella está correlacionado con el éxito de amplificación (Cardo et al. 2023). **Por último, el escaso número de hembras de mosquitos con ingesta de sangre colectadas mensualmente impidió analizar patrones estacionales, que podrían ser clave para mejorar la comprensión de la variación en los patrones de ingesta sanguínea en usos del suelo urbanos.**

CAPÍTULO IV

INGESTA SANGUÍNEA DE MOSQUITOS EN FUNCIÓN DE LA ABUNDANCIA DE VERTEBRADOS

En este capítulo se propone y testea un diseño en entornos predominantemente rurales para evaluar la asociación entre los patrones de ingesta sanguínea de los mosquitos y la abundancia de hospedadores vertebrados, el cual pretende superar ciertas limitaciones metodológicas respecto a la estimación de abundancia de vertebrados en estudios de campo. La intención es responder algunas preguntas disparadoras acerca de la relación entre los patrones de ingesta sanguínea de mosquitos y la disponibilidad de vertebrados, como, por ejemplo: ¿algunas o todas las especies de mosquito se alimentan del vertebrado más abundante?

En los estudios de campo, la composición y la abundancia relativa de vertebrados en un ambiente determinado son clave para interpretar los patrones de ingesta sanguínea de los mosquitos recolectados en un ambiente dado; sin embargo, estos factores rara vez se consideran (Yan et al. 2021). La ausencia de datos sobre la comunidad de hospedadores se debe principalmente a limitaciones metodológicas, desde los desafíos asociados a la estimación de la abundancia relativa de diferentes taxones de vertebrados a los sesgos inherentes a las técnicas de muestreo, como la observación, el conteo y la captura de especies de vertebrados en condiciones naturales (Anexo 2.2). Para abordar estos desafíos, aquí, se propone un diseño de estudio alternativo que implica “fijar” la disponibilidad de un hospedador específico, es decir, mantener la presencia predominante de una especie de vertebrado de manera constante en el espacio y el tiempo, respecto a otras posibles fuentes de alimentación. Este enfoque se basa en realizar las capturas de mosquitos en sitios donde una especie de vertebrado es sobreabundante, como por ejemplo en usos del suelo dedicados a la cría o cuidado de una especie de vertebrado específica. La comparación de los patrones de ingesta sanguínea de los mosquitos entre entornos con un vertebrado sobreabundante proporcionará información valiosa y facilitará la comprensión de estos patrones en entornos semicontrolados. Una especie de mosquito con una fuerte preferencia innata por un hospedador específico debería evitar al vertebrado sobreabundante si este no es su hospedador preferido. Por el contrario, una especie generalista debería alimentarse principalmente del vertebrado sobreabundante independientemente de su identidad. Por ejemplo, en un escenario donde los perros son excesivamente abundantes respecto al resto de los vertebrados, ¿todos o la mayoría de los mosquitos, o los mosquitos de determinadas especies, se alimentarán exclusivamente de perros? En caso contrario, ¿habrá una proporción de las ingestas sanguíneas obtenidas de otras especies de vertebrados poco abundantes? Éstas son algunas de las preguntas fundamentales que se abordan en este capítulo.

Estudios ecológicos sobre los patrones de alimentación de mosquitos en presencia de un vertebrado sobreabundante han sido realizados en instalaciones ecuestres (e.g. Tantely et al. 2022, Cardo et al. 2023, Cardo & Vezzani 2023), granjas de ganado (Brugman 2016) y granjas porcinas (Stelder et al. 2023). Los hallazgos de dichos estudios sugieren que la disponibilidad local de vertebrados puede afectar los ciclos de transmisión de patógenos, y que es necesario determinar la interacción mosquito-hospedadores en diferentes escenarios locales para obtener una visión integral de su dinámica. Hasta donde sabemos, no existen estudios publicados donde hayan utilizado este enfoque simultáneamente en diferentes entornos con un vertebrado sobreabundante. El presente capítulo tiene como objetivo evaluar los patrones de ingesta sanguínea de mosquitos comparando usos del suelo con una especie de vertebrado sobreabundante.

4.1 MATERIALES Y MÉTODOS

4.1.1 Área de estudio

La Región Metropolitana de Buenos Aires (RMBA) incluye la Ciudad Autónoma de Buenos Aires (CABA; 34°36'S, 58°23'O) y 40 distritos de la Provincia de Buenos Aires. Se extiende geográficamente por el área que abarca el río de la Plata, el Delta del río Paraná y en su límite pampeano la Ruta Provincial 6 (Observatorio AMBA 2023). Dentro de la RMBA, la Cuenca del río Reconquista constituye una de sus tres grandes cuencas hídricas, abarcando una superficie territorial de 1.670 km² (Potocko 2017). El estudio se llevó a cabo en 13 sitios distribuidos en siete municipalidades (General Las Heras, General Rodríguez, Hurlingham, Malvinas Argentinas, Marcos Paz, San Isidro y Tigre; Figura 4.1), las cuales abarcan aproximadamente 2.105 km² con una población total de 1.513.409 habitantes y la densidad poblacional varía entre 17 y 448 hab/km² (INDEC 2022).

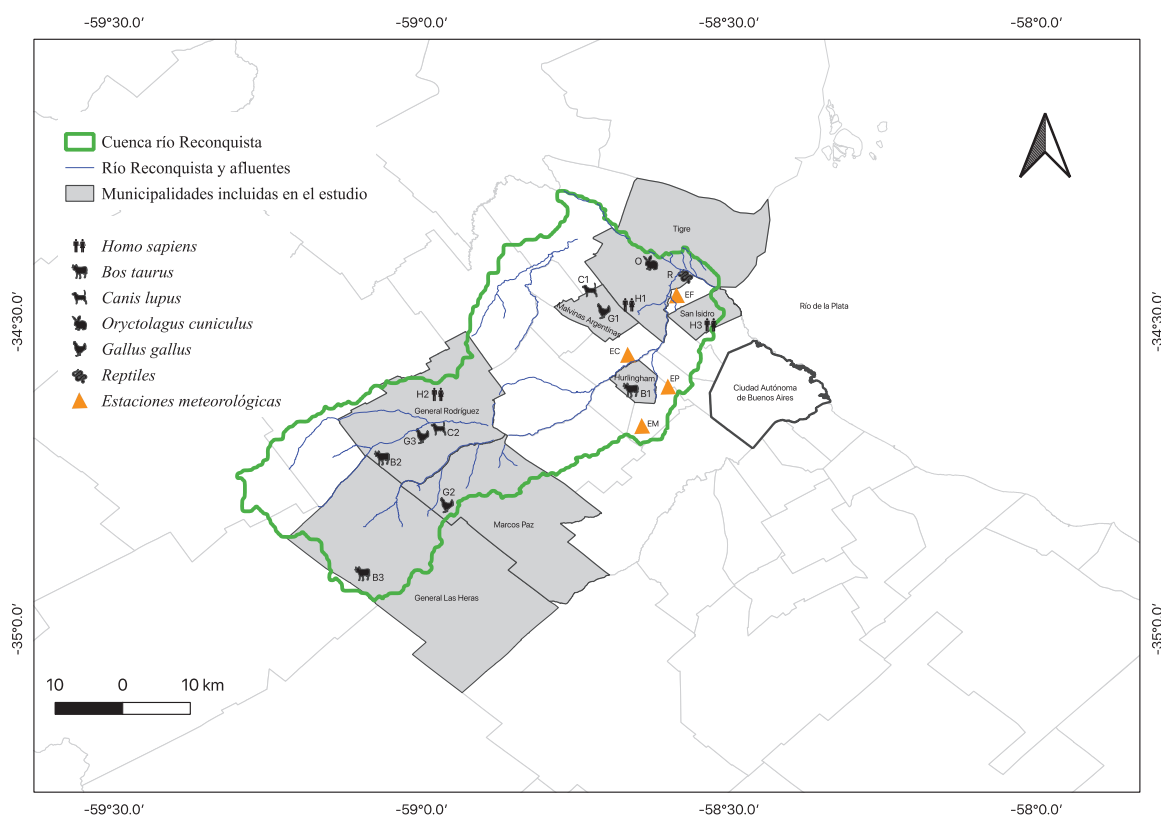


Figura 4.1 Ubicación de los 13 sitios de muestreo en los que se colectaron hembras de mosquitos con ingesta de sangre dentro de la cuenca del río Reconquista, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

4.1.2 Trabajo de campo

Colecta de mosquitos. El muestreo se realizó bimestralmente entre noviembre de 2021 y abril de 2022, para un total de tres campañas correspondientes a primavera (noviembre-diciembre), verano (enero-febrero) y otoño (marzo-abril). Para caracterizar las condiciones meteorológicas del período de muestreo, se obtuvieron datos de cuatro estaciones ubicadas dentro del área de estudio; El Palomar [EP], Campo de Mayo [EC], Morón [EM] y San Fernando [EF], proporcionados por el Servicio Meteorológico Nacional (Figura 4.1). Estos datos incluyen la temperatura mínima y máxima diaria (°C), la precipitación acumulada mensual (mm) y la humedad relativa diaria (%; mín. – máx.), los cuales fueron extraídos para cada estación entre noviembre y abril y se resumieron por mes, calculando la media para cada variable (Tabla 4.1).

Tabla 4.1 Datos meteorológicos del periodo de estudio resumidos por mes a partir de cuatro estaciones meteorológicas del área de estudio; El Palomar, Campo de mayo, Morón y San Fernando. Datos obtenidos del Centro de Información Meteorológica, Servicio Meteorológico Nacional, Argentina.

Año	Mes	Temperatura media °C (Min - Máx)	HR % (Min - Máx)	Precipitación acumulada media mensual (mm)
2022	Noviembre	20,82 (14,37 - 26,55)	65 (43 - 87)	102,63
	Diciembre	24,3 (18,62 - 29,59)	63 (42 - 84)	8,85
2023	Enero	25,53 (19,73 - 30,75)	65 (46 - 83)	119,65
	Febrero	22,24 (16,49 - 27,50)	68 (49 - 88)	111,63
	Marzo	19,64 (13,07 - 25,16)	72 (51 - 93)	79,25
	Abril	16,69 (9,41 - 22,46)	71 (48 - 95)	71,85

Los sitios de muestreo fueron seleccionados en función de la sobreabundancia permanente de un hospedador potencial específico de la siguiente manera: 3 campos de ganado (*Bos taurus*; B1 a B3), 1 granja de conejos (*Oryctolagus cuniculus*; O), 3 granjas de pollos (*Gallus gallus*; G1 a G3), 2 guarderías caninas (*Canis lupus*; C1 y C2), 3 hospitales geriátricos (*Homo sapiens*; H1 a H3) y 1 serpentario (reptiles; R). Los primeros tres entornos son instalaciones rurales productivas caracterizadas por la cría y venta de animales. Las guarderías caninas funcionan como refugios temporales para animales de compañía. Los hospitales geriátricos son centros destinados al cuidado de personas mayores y convalecientes que requieren atención especializada las 24 horas del día. En estos últimos entornos, los residentes suelen pasar tiempo al aire libre durante el día, especialmente en patios exteriores y áreas comunes diseñadas para socializar o recibir terapia. El serpentario es un centro educativo de rescate de fauna y de especies en tránsito, dedicado a la educación ambiental y conservación de reptiles. Todos los sitios se caracterizan por una dinámica hidrológica similar impulsada principalmente por los patrones de precipitación regional, con la excepción de la granja de conejos, ubicada en el bajo Delta del río Paraná. Este sitio experimenta una dinámica hidrológica más compleja, influenciada no solo por la precipitación local, sino también por el caudal del río Paraná y las fluctuaciones de marea del río de La Plata. La interacción entre estos factores crea un mosaico de hábitats, promoviendo la heterogeneidad del paisaje y la coexistencia de especies adaptadas a diferentes nichos ecológicos, lo que conduce a una mayor diversidad ecológica de la esperada en otras áreas de latitudes similares (Kandus & Malvárez 2002).

Los lugares de colecta incluyeron áreas de descanso **tanto naturales como artificiales**, ubicadas en interiores y exteriores. Estos lugares abarcaban establos de ganado, cobertizos (e.g. para gallinas y perros o almacenamiento de herramientas), jaulas de animales, oficinas, galerías y zonas con vegetación. En los hospitales geriátricos, debido a razones de privacidad y normativas, no se ingresó a las habitaciones y las colectas se realizaron en interiores de las áreas comunes (e.g. la oficina de administración) y entre la vegetación en espacios al aire libre o exteriores. En cada sitio, se realizó una búsqueda activa de mosquitos adultos en reposo entre las 7:00 y las 16:00 hs, conforme se menciona en el Capítulo III, sección 3.1.2.

Durante la última campaña, se encuestó a los propietarios o administradores de todos los sitios para conocer la presencia estable (pernocte) y el rango del número de personas y animales domésticos. Es importante resaltar que un vertebrado sobreabundante dado en un entorno podría estar presente en otro entorno, aunque en muy baja abundancia, dado que se trata de animales domésticos. Por ejemplo, se reportaron dos pollos en la granja de conejos, y siete perros y seis conejos residían en una granja de pollos (Tabla 4.2).

Tabla 4.2 Número de humanos y animales domésticos informados por los propietarios/administradores en 11 sitios de muestreo, Provincia de Buenos Aires, Argentina. El campo de ganado B3 y el serpentario R no se incluyen, ya que en el primero no se colectaron hembras con sangre en el abdomen y, en el segundo, no fue posible identificar la ingesta sanguínea.

Vertebrados	Sitios de muestreo										
	Hospitales geriátricos (<i>Homo sapiens</i>)			Campos de ganado (<i>Bos taurus</i>)		Guarderías caninas (<i>Canis lupus</i>)		Granja de conejos (<i>Oryctolagus cuniculus</i>)		Granjas de pollos (<i>Gallus gallus</i>)	
	H1	H2	H3	B1	B2	C1	C2	O	G1	G2	G3
<i>Homo sapiens</i> Pernocte	125	44	33	1	2	4	2	3	1	3	5
No pernocte	130	2	15	0	2	1	2	0	2	0	2
<i>Bos taurus</i>	0	0	0	75	152	0	0	0	0	0	0
<i>Felis catus</i>	7	0	0	2	2	3	0	1	3	10	0
<i>Canis lupus</i>	2	0	2	2	6	50-90	13	3	2	7	6
<i>Equus caballus</i>	0	0	0	1	1	0	0	0	0	2	4
<i>Oryctolagus cuniculus</i>	0	0	0	0	0	1	0	133	0	6	7
<i>Ovis aries</i>	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	7
<i>Gallus gallus</i>	0	0	0	0	3	10	0	2	450-700	50	50
<i>Anas platyrhynchos</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	17
Otros	Aves	Aves	Aves Murciélagos Ardilla	Aves Serpiente Liebre Lagarto	Aves	Aves	Aves	Aves Murciélagos <i>Myocastor coypus</i> Pavo	Aves	Aves <i>Capra hircus</i> Pavo	Aves

4.1.3 Trabajo de laboratorio.

Tanto las identificaciones taxonómicas de los mosquitos como de las ingestas se realizaron conforme a los procedimientos descritos en la sección 3.1.3 del Capítulo III.

4.1.4 Análisis de datos

Se realizó un Análisis de Componentes Principales (ACP) a partir de una matriz en la que los "sitios" (filas) representaban las colectas realizadas en cada sitio muestreado durante cada bimestre. A diferencia del ACP tradicional, las "variables" (columnas) consistían en pares que comprendían una especie de mosquito con ingesta sanguínea y la especie de hospedador de la que se alimentó. Los objetivos de este análisis fueron: (1) evaluar si las campañas realizadas en sitios idénticos están agrupadas (o no), lo que indica la ausencia (o presencia) de un efecto estacional; (2) determinar si los sitios que presentan el mismo hospedador sobreabundante están agrupados; y (3) cuantificar hasta qué punto las variables, representadas por los pares de especies mosquito-hospedador, explican el ordenamiento.

Se excluyeron del análisis los sitios que no fueron visitados en una campaña o en un evento de colecta determinado (e.g. B1 en nov-dic, indicados como NV en la Tabla 4.3) o aquellos sitios que no tenían ninguna ingesta de sangre identificada (e.g. B3, R). Luego, los hospedadores (i.e. ingestas identificadas) se agruparon en cuatro categorías: (a) humano, (b) mamíferos domésticos (perro, vaca, oveja, conejo), (c) aves domésticas (pollo) y (d) aves silvestres. La matriz resultante presentó 26 filas y 14 columnas, y se escaló previo al análisis para compensar el hecho de que algunos pares de especies de mosquito-hospedador vertebrado eran más abundantes que otros. Los análisis se realizaron en R 4.3.2 (R Core Team 2023) utilizando la función *prcomp* del paquete *stats* para el ACP y el paquete *factoextra* (Kassambara & Mundt 2020) para su visualización.

4.2 RESULTADOS

4.2.1 Composición y abundancia relativa de mosquitos

De las 3.367 hembras de mosquitos colectadas, 1.642 presentaron ingesta sanguínea. Más del 87% (1.434) de las hembras alimentadas pertenecían al complejo *Cx. pipiens* y se colectaron en todos los entornos muestreados. Los especímenes alimentados restantes correspondieron a 3 especies del

género *Aedes*, 5 de *Culex*, 1 de *Isostomyia* y 1 de *Psorophora* (Tabla 4.3). Los ejemplares con ingesta de sangre de *Ae. crinifer* (n = 72; 4% de todos los especímenes alimentados), *Ps. ferox* (70; 4%) e *Isostomyia paranensis* (37; 2%) fueron colectados exclusivamente en la granja de conejos, mientras que *Cx. eduardoi* (n = 11), *Ae. albifasciatus* (7), *Ae. aegypti* (5), *Cx. chidesteri* (3), *Cx. bidens/interfor* (1), *Cx. dolosus* (1) y *Cx. lahillei* (1) fueron colectados en uno o más sitios (Tabla 4.3), cada especie representando menos del 1% de todos los especímenes alimentados. Entre los seis entornos muestreados, el número de especies con ingesta de sangre fue mayor en la granja de conejos (8 + híbrido), intermedio en los hospitales geriátricos (5) y menor en los campos de ganado, las guarderías caninas, las granjas de pollos y el serpentario (3) (Tabla 4.3). En este último, ninguna de las ingestas de *Ae. aegypti* (n = 2), *Ae. albifasciatus* (n = 1) y complejo *Cx. pipiens* (n = 1) pudo ser identificada. Entre las 1.434 hembras alimentadas del complejo *Cx. pipiens*, se logró identificar con éxito ADN aislado en 44 de los 57 especímenes (77%) procesados con el kit de extracción, y en 95 de los 266 especímenes (36%) utilizando hidróxido de amonio. En total, 139 especímenes fueron identificados exitosamente mediante técnicas moleculares, reportándose *Cx. quinquefasciatus*, *Cx. pipiens molestus* y el híbrido entre ambas especies. Los especímenes de *Cx. quinquefasciatus* con ingesta de sangre fueron más abundantes que los de *Cx. pipiens molestus* en todos los entornos (Tabla 4.3).

4.2.2 Identificación de la ingesta de sangre

Interacciones mosquito-hospedador

De las 1.642 hembras con ingesta de sangre colectadas, se realizó el análisis de la ingesta sanguínea en 461 especímenes, logrando identificar exitosamente la especie de hospedador en 242 muestras (53%). De estas, sangre de 17 especies de vertebrados (5 mamíferos, 12 aves) fue aislada de *Ae. aegypti*, *Ae. albifasciatus*, *Ae. crinifer*, *Cx. chidesteri*, *Cx. eduardoi*, *Is. paranensis*, *Ps. ferox*, *Cx. pipiens molestus*, *Cx. quinquefasciatus* y el híbrido entre estas dos últimas (Tabla 4.4). Las muestras de sangre de *Cx. bidens/interfor*, *Cx. dolosus* y *Cx. lahillei* (un espécimen cada una) no amplificaron. Los hospedadores mamíferos, todos ellos especies domésticas, fueron identificados en 148 ingestas de sangre (61% del total); éstas se aislaron de ocho especies de mosquitos más el híbrido. Las aves estuvieron representadas por nueve familias de cinco órdenes, Accipitridae (Accipitriformes), Columbidae (Columbiformes), Phasianidae (Galliformes), Ardeidae (Pelecaniformes) y Cardinalidae, Furnariidae, Mimidae, Troglodytidae y Turdidae (Passeriformes). El orden Passeriformes presentó el mayor número de especies hospedadoras (6) seguido de

Columbiformes (3). Dos tercios de las 94 ingestas de sangre de aves identificadas correspondieron a *G. gallus* (n = 63), y el resto fueron de especies silvestres (Tabla 4.4).

Considerando los cinco entornos analizados en conjunto, el 79% de las 242 ingestas de sangre identificadas se obtuvieron del vertebrado sobreabundante. En los campos de ganado, las guarderías caninas, las granjas de pollos y la granja de conejos, la mayoría de las especies de mosquitos se alimentaron del vertebrado sobreabundante al menos una vez. En estos entornos, más de dos tercios del total de ingestas de sangre registradas correspondieron al vertebrado sobreabundante, con proporciones que variaron desde 0,67 en los campos de ganado hasta 0,99 en la granja de cría de conejos. En contraste, en los hospitales geriátricos sólo el 7% del total de ingestas de sangre correspondieron al vertebrado sobreabundante, i.e., humanos (Tabla 4.4). En general, la proporción de ingestas sanguíneas sobre el vertebrado sobreabundante en todos los entornos fue menor para los miembros del complejo *Cx. pipiens* (0,5 para *Cx. pipiens molestus* y el híbrido, y 0,67 para *Cx. quinquefasciatus*), y mayor (0,9-1) para *Ae. aegypti*, *Ae. albifasciatus*, *Ae. crinifer*, *Cx. eduardoi*, *Is. paranensis* y *Ps. ferox*, aunque con un tamaño de muestra bajo para *Ae. aegypti* y *Ae. albifasciatus* (Tabla 4.4).

Tabla 4.3 Número de hembras con ingesta de sangre colectadas [y secuenciadas] por especie de mosquito en 11 sitios correspondientes a cinco entornos con sobreabundancia de un vertebrado, Provincia de Buenos Aires (Argentina). La serie de tres valores corresponde a las tres campañas (nov-dic/ene-feb/mar-abr). Los sitios B3 y R fueron excluidos, en B3 no se colectaron hembras con sangre en el abdomen y, en R no fue posible identificar la ingesta sanguínea.

Especies de mosquito	Hospitales geriátricos (<i>H. sapiens</i>)			Campos de ganado (<i>B. taurus</i>)		Guarderías caninas (<i>C. lupus</i>)		Granja de conejos (<i>O. cuniculus</i>)		Granjas de pollos (<i>G. gallus</i>)			TOTAL
	H1	H2	H3	B1	B2	C1	C2	O	G1	G2	G3		
<i>Ae. aegypti</i>	0/0/0 [0/0/0]	0/0/1 [0/0/0]	0/2/2 [0/1/1]	NV/0/0 [NV/0/0]	0/0/0 [0/0/0]	0/0/0 [0/0/0]	NV/0/0 [NV/0/0]	0/0/0 [0/0/0]	0/0/0 [0/0/0]	0/0/0 [0/0/0]	NV/0/0 [NV/0/0]	0/2/3 [0/1/1]	
<i>Ae. albifasciatus</i>	0/0/0 [0/0/0]	0/0/0 [0/0/0]	0/0/1 [0/0/0]	NV/0/3 [NV/0/2]	0/0/1 [0/0/1]	0/0/0 [0/0/0]	NV/0/1 [NV/0/0]	0/0/1 [0/0/0]	0/0/0 [0/0/0]	0/0/0 [0/0/0]	NV/0/0 [NV/0/0]	0/0/7 [0/0/3]	
<i>Ae. crinifer</i>	0/0/0 [0/0/0]	0/0/0 [0/0/0]	0/0/0 [0/0/0]	NV/0/0 [NV/0/0]	0/0/0 [0/0/0]	0/0/0 [0/0/0]	NV/0/0 [NV/0/0]	40/18/14 [20/15/11]	0/0/0 [0/0/0]	0/0/0 [0/0/0]	NV/0/0 [NV/0/0]	40/18/14 [20/15/11]	
<i>Cx. bidens/interfor</i>	0/0/0 [0/0/0]	0/0/0 [0/0/0]	0/0/0 [0/0/0]	NV/0/0 [NV/0/0]	0/0/1 [0/0/0]	0/0/0 [0/0/0]	NV/0/0 [NV/0/0]	0/0/0 [0/0/0]	0/0/0 [0/0/0]	0/0/0 [0/0/0]	NV/0/0 [NV/0/0]	0/0/1 [0/0/0]	
<i>Cx. chidesterei</i>	0/0/0 [0/0/0]	0/0/0 [0/0/0]	0/0/0 [0/0/0]	NV/0/0 [NV/0/0]	0/0/0 [0/0/0]	0/0/0 [0/0/0]	NV/0/0 [NV/0/0]	0/2/0 [0/0/0]	0/0/0 [0/0/0]	0/1/0 [0/1/0]	NV/0/0 [NV/0/0]	0/3/0 [0/1/0]	
<i>Cx. dolosus</i>	0/0/0 [0/0/0]	0/0/0 [0/0/0]	0/0/0 [0/0/0]	NV/0/0 [NV/0/0]	0/0/0 [0/0/0]	0/0/0 [0/0/0]	NV/0/0 [NV/0/0]	0/0/0 [0/0/0]	0/0/0 [0/0/0]	1/0/0 [0/0/0]	NV/0/0 [NV/0/0]	1/0/0 [0/0/0]	
<i>Cx. eduardoi</i>	0/0/0 [0/0/0]	0/0/1 [0/0/0]	0/0/0 [0/0/0]	NV/0/0 [NV/0/0]	0/0/0 [0/0/0]	0/0/0 [0/0/0]	NV/0/2 [NV/0/2]	0/7/1 [0/7/1]	0/0/0 [0/0/0]	0/0/0 [0/0/0]	NV/0/0 [NV/0/0]	0/7/4 [0/7/3]	
<i>Cx. lahillei</i>	0/0/0 [0/0/0]	0/0/1 [0/0/0]	0/0/0 [0/0/0]	NV/0/0 [NV/0/0]	0/0/0 [0/0/0]	0/0/0 [0/0/0]	NV/0/0 [NV/0/0]	0/0/0 [0/0/0]	0/0/0 [0/0/0]	0/0/0 [0/0/0]	NV/0/0 [NV/0/0]	0/0/1 [0/0/0]	
<i>Cx. pipiens</i> s.l.*	5/21/33 [0/2/2]	5/14/4 [0/2/1]	2/3/3 [0/0/0]	NV/9/8 [NV/0/0]	1/21/10 [0/3/0]	107/183/144 [0/1/0]	NV/4/16 [NV/0/0]	2/9/6 [1/0/1]	17/275/225 [0/0/0]	1/100/67 [0/0/2]	NV/35/104 [NV/0/3]	140/674/620 [1/8/9]	
<i>Cx. pipiens molestus</i>													
<i>Cx. quinquefasciatus</i>													
Híbrido**													
<i>Is. paranensis</i>													
<i>Ps. ferox</i>													
TOTAL	5/21/33 [0/9/9]	5/14/7 [3/4/1]	2/5/6 [1/1/1]	NV/9/11 [NV/1/4]	1/21/12 [0/4/3]	107/183/144 [9/9/10]	NV/4/19 [NV/0/4]	43/103/61 [22/44/36]	17/275/225 [10/10/10]	2/101/67 [0/11/11]	NV/35/104 [NV/6/9]	182/771/689 [45/99/98]	

NV: no visitado; *indica los miembros del complejo *Cx. pipiens*; **Forma híbrida entre *Cx. pipiens molestus* y *Cx. quinquefasciatus*.

Tabla 4.4 Interacciones mosquito-hospedador en 11 sitios correspondientes a cinco entornos con sobreabundancia de un vertebrado en la Provincia de Buenos Aires, Argentina. Los sitios H, B, C, O y G corresponden a hospitales geriátricos, campos de ganado, guarderías caninas, granjas de conejos y granjas de pollos, respectivamente. El número entre paréntesis junto a cada sitio indica la cantidad de campañas realizadas.

Especie de mosquito	Hospedador	Hospitales geriátricos (H. sapiens)			Campos de ganado (B. taurus)		Guarderías caninas (C. lupus)		Granja de conejos (O. cuniculus)		Granjas de pollos (G. gallus)			TOTAL	
		H1 (2)	H2 (3)	H3 (3)	B1 (2)	B2 (2)	C1 (3)	C2 (1)	O (3)	G1 (3)	G2 (2)	G3 (2)	Ingestas sobre el vertebrado sobreabundante	Proporción de ingestas sobre el vertebrado sobreabundante (total ingestas)	
Ae. aegypti	Homo sapiens		2										2	1 (2)	
Ae. albifasciatus	Bos taurus				2	1							3	1 (3)	
Ae. crinifer	Oryctolagus cuniculus						46						46	1 (46)	
Cx. chidesteri	Patagioenas picazuro								1				0	0 (1)	
Cx. eduardoi	Canis lupus						1								
	Oryctolagus cuniculus							8							
	Ovis aries						1						9	0,9 (10)	
	Bos taurus	2			2										
	Canis lupus				1	1									
Cx. pipiens molestus	Oryctolagus cuniculus	2							2		2	2			
	Gallus gallus														
	Mimus saturninus			1											
	Patagioenas picazuro	1		1								1			
	Syrigma sibilatrix														
	Turdus rufiventris	1													
	Zenaida auriculata			1									9	0,5 (18)	
Cx. quinquefasciatus	Bos taurus				2	1									
	Canis lupus					1	18	2		2	1	1			
	Oryctolagus cuniculus	6							3						
	Columbina picui					1					1				
	Furnarius rufus	2					2								
	Gallus gallus	1					3			28	16	10			
	Parabuteo unicinctus	1													
	Patagioenas picazuro		3												
	Piranga flava	1													
	Syrigma sibilatrix														
	Troglodytes aedon			1							1				
	Turdus amaurochalinus		1												
	Turdus rufiventris	3	1				1								
	Zenaida auriculata				1		3						80	0,67 (119)	

(Continuación Tabla 4.4).

Especie de mosquito	Hospedador	Hospitales geriátricos (<i>H. sapiens</i>)			Campos de ganado (<i>B. taurus</i>)		Guarderías caninas (<i>C. lupus</i>)		Granja de conejos (<i>O. cuniculus</i>)		Granjas de pollos (<i>G. gallus</i>)			TOTAL Por especie de mosquito	
		H1 (2)	H2 (3)	H3 (3)	B1 (2)	B2 (2)	C1 (3)	C2 (1)	O (3)	G1 (3)	G2 (2)	G3 (2)	Ingestas sobre el vertebrado sobreabundante	Proporción de ingestas sobre el vertebrado sobreabundante (total ingestas)	
Híbrido*	<i>Oryctolagus cuniculus</i> <i>Gallus gallus</i>								1 1				1	0,5 (2)	
<i>Is. paranensis</i>	<i>Oryctolagus cuniculus</i>								20				20	1 (20)	
<i>Ps. ferox</i>	<i>Oryctolagus cuniculus</i>								21				21	1 (21)	
TOTAL Por sitio	Ingestas sobre el vertebrado sobreabundante	0	0	2	4	4	19	3	101	28	18	12			
	Proporción de ingestas sobre el vertebrado sobreabundante (total ingestas)	0 (18)	0 (8)	0,67 (3)	0,8 (5)	0,57 (7)	0,68 (28)	0,75 (4)	0,99 (102)	0,93 (30)	0,82 (22)	0,8 (15)			
TOTAL Por entorno	Ingestas sobre el vertebrado sobreabundante			2	8	8	22	22	101		58		191		
	Proporción de ingestas sobre el vertebrado sobreabundante (total ingestas)		0,07 (29)		0,67 (12)	0,69 (32)			0,99 (102)		0,87 (67)			0,79 (242)	

*Forma híbrida entre *Cx. pipiens molestus* y *Cx. quinquefasciatus*.

En los hospitales geriátricos, se identificaron 29 especímenes con ingesta sanguínea, entre ellos *Cx. quinquefasciatus* (n = 20), *Cx. pipiens molestus* (7) y *Ae. aegypti* (2). Cabe destacar que solo *Ae. aegypti* se alimentó del vertebrado sobreabundante, mientras que *Cx. quinquefasciatus* y *Cx. pipiens molestus* se alimentaron principalmente de aves (8 y 4 especies, respectivamente) y *C. lupus* (Tabla 4.4, Figura 4.2a).

En campos ganaderos, se identificaron 12 ingestas de sangre de *Cx. quinquefasciatus* (n = 6), *Cx. pipiens molestus* (3) y *Ae. albifasciatus* (3). *Cx. quinquefasciatus* se alimentó tanto de aves, *Columbina picui* (n = 1) y *Zenaida auriculata* (n = 1), como de mamíferos, *B. taurus* (n = 3) y *C. lupus* (n = 1), mientras que *Cx. pipiens molestus* se alimentó únicamente de mamíferos *B. taurus* (n = 2) y *C. lupus* (n = 1). Por su parte, *Ae. albifasciatus* se alimentó exclusivamente de *B. taurus*. Las tres especies colectadas se alimentaron al menos una vez del vertebrado sobreabundante (Tabla 4.4, Figura 4.2b).

Respecto a las guarderías caninas, un total de 32 ingestas de sangre fueron identificadas de *Cx. quinquefasciatus* (n = 29), *Cx. pipiens molestus* (1) y *Cx. eduardoi* (2). Para *Cx. quinquefasciatus*, el 69% de las ingestas de sangre identificadas correspondieron a vertebrado sobreabundantes, mientras que el 31% restante fue de aves (*Z. auriculata*, *G. gallus*, *Furnarius rufus* y *Turdus rufiventris*). *Cx. pipiens molestus* y *Cx. eduardoi* se alimentaron de mamíferos (*C. lupus* y *C. lupus* + *Ovis aries*, respectivamente) (Tabla 4.4, Figura 4.2c).

En granjas de pollos, se identificaron 67 ingestas de sangre de *Cx. quinquefasciatus* (n = 61), *Cx. pipiens molestus* (5) y *Cx. chidesteri* (1). La mayoría (89%) de las ingestas de sangre de *Cx. quinquefasciatus* provinieron del vertebrado sobreabundante, mientras que las restantes fueron de mamíferos (7%, *C. lupus*) y aves silvestres (4%). Por su parte, *Cx. pipiens molestus* se alimentó de aves (cuatro ingestas sobre *G. gallus* y una sobre *Syrigma sibilatrix*), y *Cx. chidesteri* presentó una única ingesta sobre *G. gallus* (Tabla 4.4, Figura 4.2d).

En la granja de conejos, un total de 102 ingestas de sangre fueron identificadas de seis especies de mosquitos más el híbrido. *Aedes crinifer* (n = 46), *Ps. ferox* (21), *Is. paranensis* (20), *Cx. eduardoi* (8), *Cx. quinquefasciatus* (n = 3) y *Cx. pipiens molestus* (2) se alimentaron exclusivamente sobre el vertebrado sobreabundante, de *O. cuniculus*. Las dos ingestas de sangre del híbrido correspondieron a *O. cuniculus* y *G. gallus*. Ninguna de las muestras de *Ae. albifasciatus* (n = 1) y *Cx. chidesteri* (n = 2) pudo ser identificada (Tabla 4.4, Figura 4.2e).

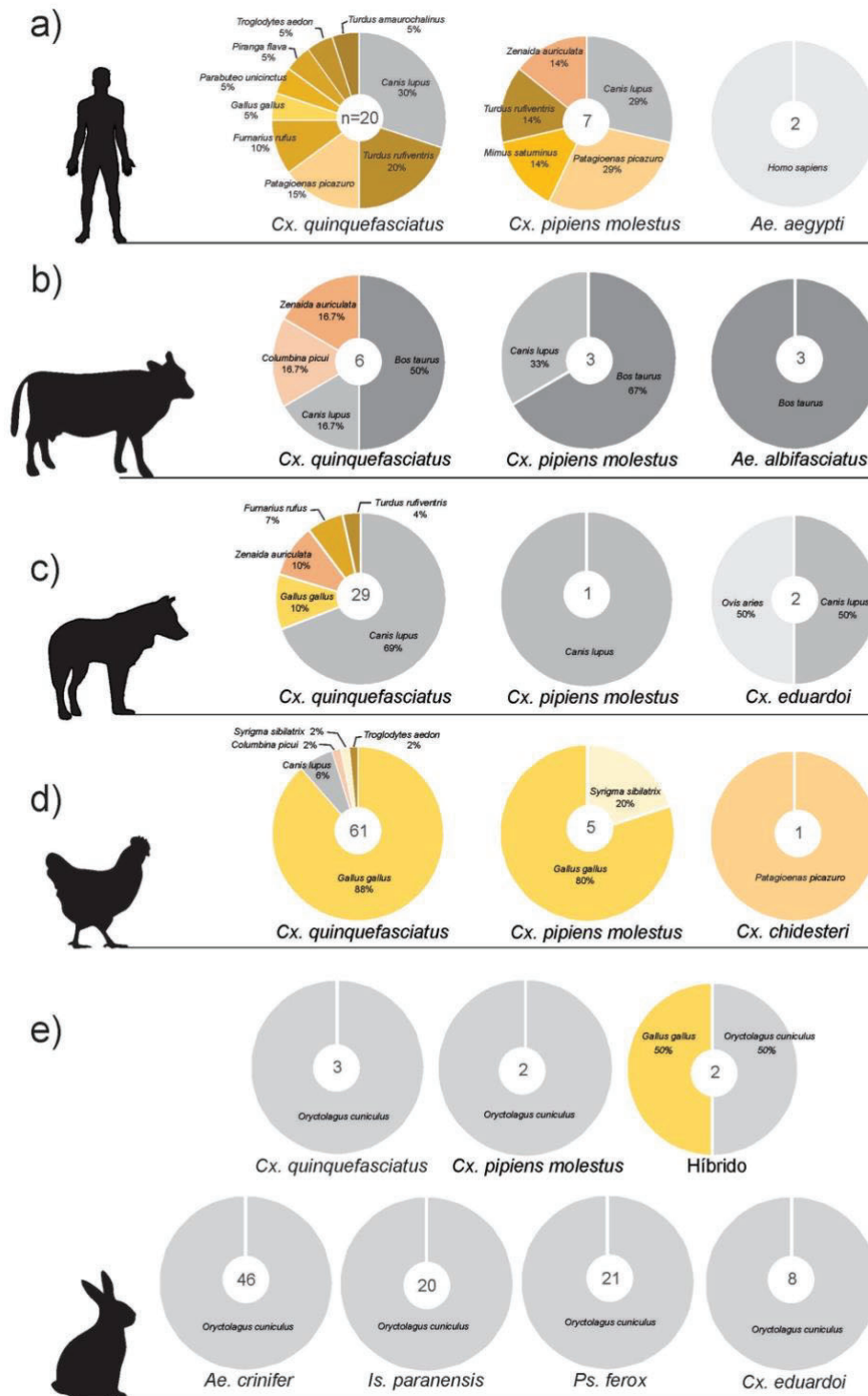


Figura 4.2 Fuentes de ingesta de sangre de los mosquitos en cinco entornos con sobreabundancia de una especie de vertebrado: hospitales geriátricos (a), campos de ganado (b), guarderías caninas (c), granjas de pollos (d) y granjas de cría de conejos (e). Cada porción de la torta representa la proporción de ingestas de sangre sobre el vertebrado específico; los mamíferos se muestran en diferentes tonos de gris y los hospedadores aviares, en una paleta de colores que va de amarillo a café.

4.2.3 Análisis de Componentes Principales (ACP)

El biplot del ACP que considera los 26 eventos de muestreo (sitio x campaña) se muestra en la Figura 4.3. El primer componente principal (CP1) representó el 45,9% de la varianza en el conjunto de datos, seguido por CP2 (19,5%) y CP3 (15,1%). En conjunto, estos tres componentes explicaron más del 80% de la varianza total. El ordenamiento estuvo fuertemente influenciado por las tres colectas en la granja de cría de conejos, un sitio que albergó una comunidad de mosquitos diferente a los otros sitios. De hecho, tres de estas especies (*Ae. crinifer*, *Is. paranensis* y *Ps. ferox*) sólo se colectaron en este sitio. Por lo tanto, se eliminaron estas tres filas de la matriz (granja de cría de conejos en primavera, verano y otoño) y se repitió el análisis para obtener una comprensión más clara de las interacciones entre los sitios restantes.

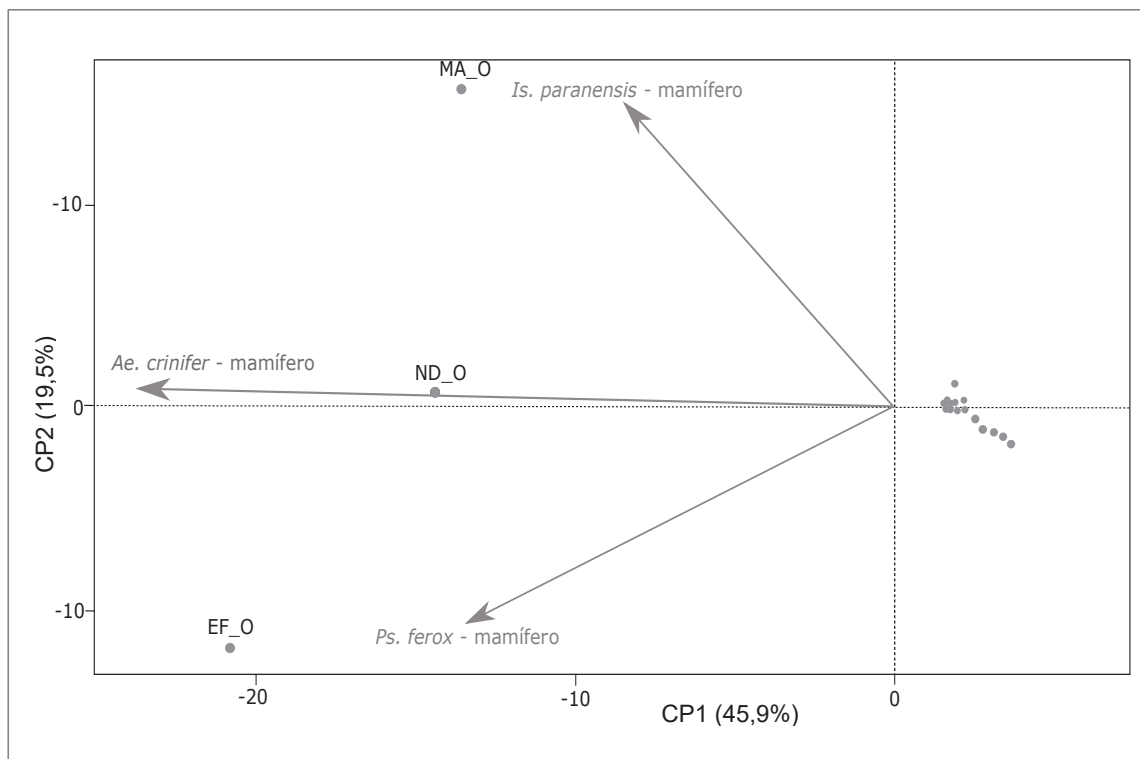


Figura 4.3 Diagrama biplot del análisis de componentes principales que muestra la relación entre las interacciones mosquito-hospedador (representadas por vectores) y los sitios muestreados por estación, considerando 26 eventos de muestreo (representados por puntos). La dirección y longitud de los vectores indican la magnitud de la contribución de cada variable a los dos primeros componentes principales, CP1 y CP2. El porcentaje de la varianza total explicada por cada CP se indica junto a cada eje. Los puntos grises indican el muestreo en la granja de cría de conejos (O) en primavera (ND), verano (EF) y otoño (MA).

El biplot obtenido al excluir la granja de conejos se muestra en la Figura 4.4. El CP1 representó el 58,7% de la varianza en el conjunto de datos, CP2 el 24,1% y CP3 el 11,3%, sumando un total del 94% de la varianza. El ordenamiento sobre el CP1 estuvo asociado principalmente con el patrón de ingesta sanguínea de *Cx. quinquefasciatus*, ya sea que se alimentara de pollos (a la izquierda del eje) versus mamíferos o aves silvestres (a la derecha del eje). Por lo tanto, las tres granjas de pollos se agruparon en valores negativos del CP1, con el par *Cx. quinquefasciatus*-*G. gallus* mostrando la carga más alta, lo que sugiere una fuerte asociación entre estas dos especies. Las muestras de la misma granja de pollos en las diferentes estaciones estaban relativamente cerca unas de otras, lo que sugiere la ausencia de un cambio estacional. Por el contrario, en el CP2, los sitios donde *Cx. quinquefasciatus* se alimentó de mamíferos (principalmente perros) se separaron hacia valores negativos de aquellos donde se alimentó de aves silvestres. Esta separación refleja un cambio estacional en la alimentación de *Cx. quinquefasciatus*, como se observó, por ejemplo, en los sitios C1 y H1, que se inclinan hacia las aves silvestres en primavera, pero hacia los mamíferos en verano y otoño. Los restantes hospitales geriátricos, G2 y G3, junto con los campos de ganado, se agruparon en función del patrón de alimentación de las diferentes especies de mosquitos y la composición de hospedadores. Dentro de cada entorno, las muestras del mismo sitio en diferentes estaciones estaban relativamente cerca unas de otras (Figura 4.4).

Para analizar con mayor detalle el cambio estacional de aves a mamíferos de *Cx. quinquefasciatus* observado en la Figura 4.4, se seleccionaron una granja de pollos (G1) y una guardería canina (C1) que presentaron la mayor cantidad de ingestas de sangre de *Cx. quinquefasciatus* identificadas (entre 8 y 10 por bimestre), y se analizó la proporción de ingestas de sangre en cada hospedador. Durante la primavera, los ejemplares de *Cx. quinquefasciatus* colectados en la guardería canina exhibieron un patrón de alimentación diverso, con una proporción significativa de ingestas de sangre tomadas de especies de aves como *Z. auriculata*, *F. rufus*, *T. rufiventris* y *G. gallus*. Sin embargo, en verano se observó un aumento notable en la proporción de ingestas de sangre sobre mamíferos, particularmente *C. lupus*. En otoño, el patrón de alimentación pasó a ser predominantemente mamífero con todas las ingestas de sangre de *C. lupus* (Figura 4.5). En contraste, esto no ocurrió en la granja de pollos, donde los datos indican una tendencia constante a alimentarse predominante de *G. gallus* en todas las estaciones (Figura 4.5).

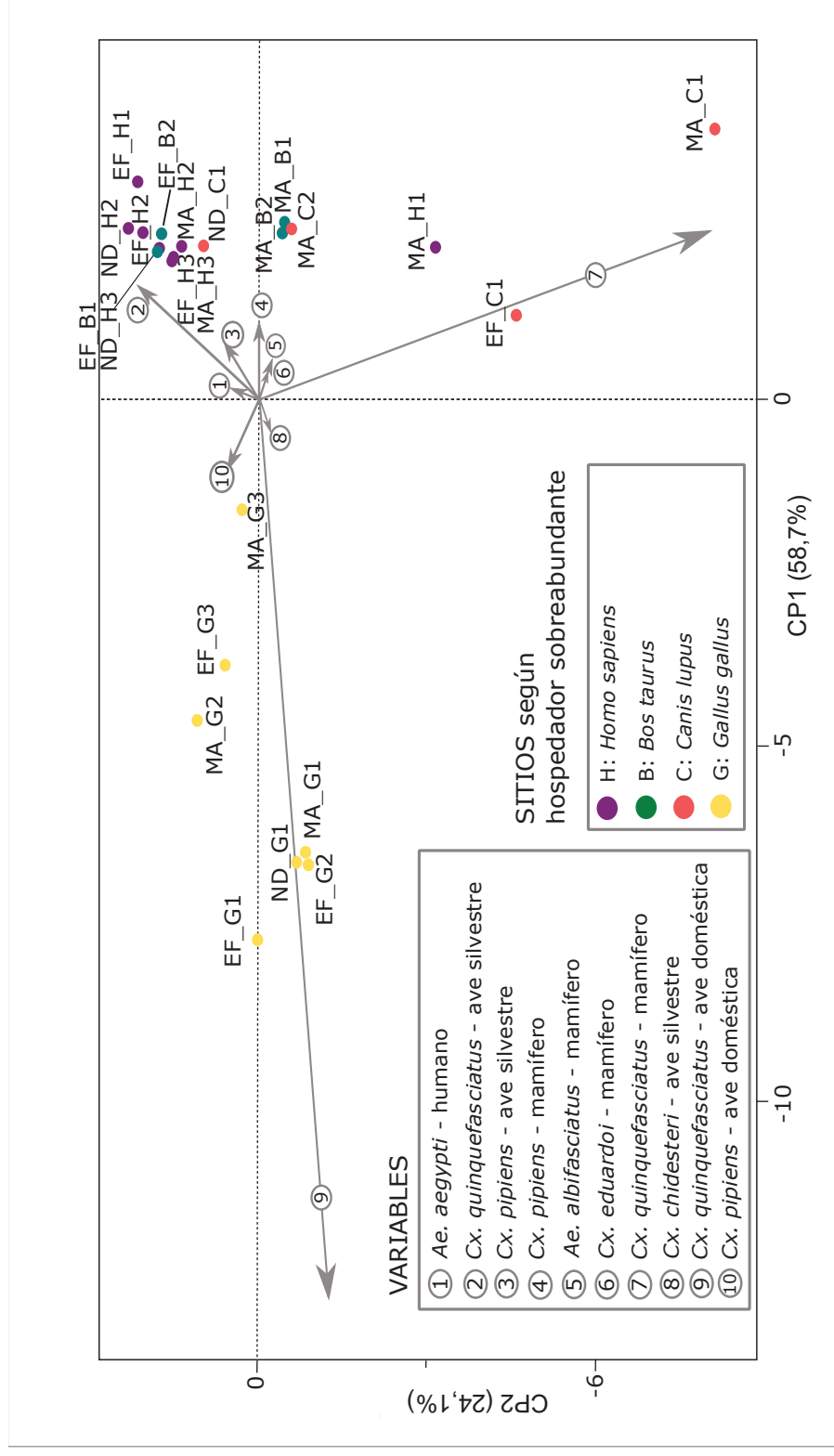


Figura 4.4 Diagrama biplot del análisis de componentes principales que muestra la relación entre las interacciones mosquito-hospedador (representadas por vectores, numerados solo con fines gráficos) y los sitios muestreados por estación, considerando 23 eventos de muestreo después de la exclusión de la granja de cría de conejos (representados por puntos). Cada punto está etiquetado con dos primeras letras que indican el bimestre de muestreo, seguida de un guión bajo, una tercera letra que indica el entorno según el vertebrado sobreabundante, y un número que indica el sitio de muestreo dentro de cada entorno. La dirección y longitud de los vectores indican la magnitud de la contribución de cada variable a los dos primeros componentes principales, CP1 y CP2. El porcentaje de la varianza total explicada por cada CP se indica junto a cada eje.

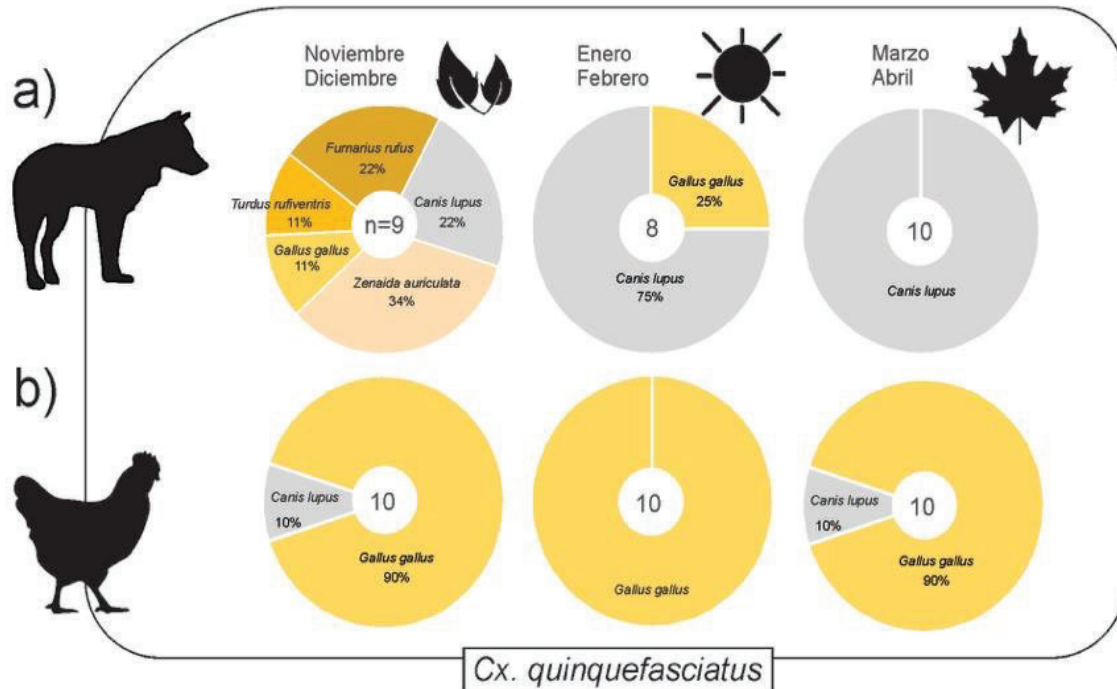


Figura 4.5 Fuentes de ingesta sanguínea de *Cx. quinquefasciatus* a lo largo de tres estaciones (primavera, verano y otoño) en la guardería para perros C1 (a) y la granja de pollos G1 (b). Cada porción del gráfico representa la proporción de ingestas sobre una especie vertebrado específica; *Canis lupus* está representado en gris y los hospedadores aviares en una paleta de colores de amarillo a café.

4.3 DISCUSIÓN

A pesar de décadas de estudios enfocados en identificar los factores que afectan a los patrones de ingesta sanguínea de los mosquitos, el grado en que estos patrones están influenciados por la composición, abundancia y disponibilidad de especies de vertebrados aún requiere una investigación más profunda (Chaves et al. 2010). Hasta donde sabemos, este es el primer estudio que investiga patrones de ingesta sanguínea de las especies de mosquitos analizadas aquí mediante este enfoque, i.e., manteniendo la presencia predominante de un vertebrado específico de manera consistente a través del espacio y el tiempo simultáneamente en diferentes entornos predominantemente rurales. El uso de entornos con un vertebrado sobreabundante es un enfoque novedoso que puede ser de utilidad para evaluar la tendencia innata de las especies de mosquitos por ciertos vertebrados, en contraste con una tendencia generalista, i.e., obtener sangre en diversas circunstancias sin importar cual sea el vertebrado disponible. Si la preferencia de una especie de mosquito por un determinado vertebrado o

grupo de vertebrados es fuerte, debería evadir al vertebrado sobreabundante cuando no es la opción preferida. En contraste, una especie de mosquito generalista se alimentaría principalmente del vertebrado sobreabundante, independientemente de su identidad. Los resultados obtenidos sugieren una fuerte influencia de la abundancia del hospedador en los patrones de alimentación de las especies de mosquitos analizadas. Considerando todos los entornos examinados en conjunto, casi el 80% de las ingestas sanguíneas registradas fueron sobre el vertebrado sobreabundante, incluyendo todas las ingestas de *Ae. aegypti*, *Ae. albifasciatus*, *Ae. crinifer*, *Is. paranensis* y *Ps. ferox*, mientras que para los miembros del complejo *Cx. pipiens* la proporción de las ingestas varió entre la mitad y dos tercios. Esto resalta la importancia de considerar la disponibilidad de los vertebrados en los patrones de ingesta sanguínea de los mosquitos, en concordancia con Fikrig & Harrington (2021), quienes concluyeron que las abundancias relativas de las distintas especies de hospedadores disponibles son determinantes clave de los patrones de alimentación.

Los resultados revelan distintos patrones en la agrupación de los sitios de muestreo y en las interacciones mosquito-hospedador. En el conjunto de datos completo, el análisis estuvo fuertemente influenciado por las colectas en la granja de conejos. Notablemente, la mitad de los especímenes cuyas ingestas sanguíneas fueron identificadas se colectaron solo en este sitio, y todas ellas se alimentaron exclusivamente de conejo. A diferencia de los otros entornos, este sitio alberga una comunidad de mosquitos diversa y única debido a su ubicación en el bajo Delta del Paraná. Para estas especies, aunque el tamaño de la muestra fue considerable, las identificaciones de la ingesta sanguínea se derivaron de solo una o dos campañas, lo que dificultó las comparaciones entre estaciones, y en algunos casos, hizo imposible las comparaciones con otros entornos. El presente capítulo aporta los primeros datos sobre la identificación de la ingesta sanguínea de *Is. paranensis*, así como el primer registro de ingesta de sangre de conejo para *Ae. crinifer*, *Ps. ferox* y *Cx. eduardoi*. Estudios previos en Sudamérica han mostrado la gran capacidad de *Ae. crinifer* y *Ps. ferox* para alimentarse tanto de aves como de mamíferos, lo que sugiere patrón de alimentación sobre hospedadores endotérmicos (ver Anexo 2.2, Anexo 5.1). Los resultados presentados en este capítulo sugieren que dichas especies se alimentan del vertebrado más abundante. En cuanto a *Is. paranensis*, es necesario recopilar más datos en diversos ambientes para describir sus patrones de alimentación.

Excluyendo la granja de conejos, la posición de los sitios restantes en el análisis de ordenamiento estuvo principalmente influenciada por el patrón de alimentación de *Cx. quinquefasciatus* sobre pollos, perros o aves silvestres. Para esta especie, la preferencia por el hospedador parece superar, en cierta medida, la disponibilidad de vertebrados en la influencia de sus patrones de alimentación. En una guardería canina, cuando las aves silvestres estaban disponibles en primavera, los mosquitos se

alimentaron mayormente de ellas en lugar de los perros. Sin embargo, cuando las aves presumiblemente se volvieron menos disponibles durante el verano y otoño, los mosquitos se alimentaron de los perros que seguían siendo abundantes. Los perros fueron alojados en recintos exteriores alambrados las 24 horas del día durante todo el trabajo de campo, lo que aseguró la consistencia en su manejo sin variaciones estacionales. Si bien las vacaciones estivales podrían haber influido en el número de perros presentes, llevando a una mayor abundancia durante los muestreos de verano, el alto número de picaduras de mosquitos en los perros persistió hasta el otoño. Estos resultados sugieren un cambio estacional en las preferencias de alimentación de *Cx. quinquefasciatus*, pasando de aves a mamíferos. En contraste, en la granja de pollos *Cx. quinquefasciatus* se alimentó durante las tres estaciones casi exclusiva sobre pollos. El cambio estacional del patrón de ingestas de aves a mamíferos observado en la guardería canina puede reflejar, en la naturaleza, fluctuaciones en la abundancia y disponibilidad de aves silvestres y mamíferos, influenciadas por las condiciones ambientales, los ciclos reproductivos y migraciones de las aves, y los comportamientos defensivos de las especies de vertebrados que pueden afectar las tasas de contacto mosquito-hospedador (Yan et al. 2021). Takken & Verhulst (2013) compilaron estudios en los que el patrón de alimentación de *Cx. quinquefasciatus* variaba desde un 100% mamofágico (incluyendo humanos) hasta un alto grado de ornitofagia, y afirmaron que dicha variación está determinada por la abundancia relativa y la disponibilidad de hospedadores vertebrados en un área específica.

Respecto a los miembros del complejo *Cx. pipiens*, para *Cx. pipiens molestus*, en este capítulo se reportan varios hospedadores por primera vez en Sudamérica; i.e., vaca (*B. taurus*), conejo (*O. cuniculus*), calandria grande (*Mimus saturninus*), paloma picazuro (*Patagioenas picazuro*) y chiflón (*Syrigma sibilatrix*). A su vez, para *Cx. quinquefasciatus* los nuevos registros de hospedadores corresponden a conejo y especies de aves silvestres, a saber, torcacita (*C. picui*), gavilán mixto (*Parabuteo unicinctus*), fueguero (*Piranga flava*) y chiflón (*S. sibilatrix*). *Cx. quinquefasciatus* se alimentó predominantemente del vertebrado sobreabundante en 4 de los 5 entornos, con la excepción de los hospitales geriátricos, donde el 30 % de las ingestas sanguíneas fueron de perros, el 70 % de aves y no se identificaron ingestas de sangre de humano. Esto último se debe probablemente a que los miembros del complejo son en su mayoría picadores nocturnos (Gowda & Vijayan 1993), por lo que los especímenes que se alimentaron de humanos posiblemente estaban presentes en interiores de las habitaciones y baños de los hospitales geriátricos, donde no pudieron realizarse muestreos debido a restricciones administrativas. Varios estudios han reportado el impacto de la disponibilidad de hospedadores a través de comparar sitios interiores y exteriores, mostrando que en exteriores la proporción de ingestas sanguíneas sobre humanos disminuye y la diversidad de otros vertebrados aumenta (Fikrig et al. 2021).

La presente propuesta metodológica es una alternativa para superar ciertas limitaciones y sesgos en la estimación de la disponibilidad de vertebrados de diferentes taxones en el campo. Sin embargo, la confinación de especies en granjas o jaulas puede aumentar su susceptibilidad a ser localizadas por mosquitos en busca de hospedadores, al producir señales olfativas más intensas, y también limitar los comportamientos defensivos naturales en comparación con los hospedadores silvestres. Otros modelos alternativos que se asemejan al concepto de “fijar la oferta de vertebrados” son aquellos estudios realizados en zoológicos, que funcionan como un sistema cerrado donde los mosquitos y los vertebrados interactúan dentro de un área confinada y en el que se conoce la identidad y el número de vertebrados encerrados (e.g. Greenberg et al. 2012, Tuten et al. 2012). Sin embargo, estos entornos albergan una amplia variedad de animales, tanto exóticos como nativos, cuyas abundancias son variables y, a menudo, extremadamente bajas (Nelder et al. 2009). Las aves silvestres han sido descritas como la principal fuente de alimentación de *Cx. pipiens* s.l. en un zoológico en Tennessee, EE.UU (Briggs et al. 2023). Similarmente, un estudio realizado en un zoológico de Barcelona (España) encontró que aves silvestres y exóticas dominaban la alimentación de *Cx. pipiens* s.l., mientras que los humanos eran la única fuente de ingesta de sangre de *Ae. albopictus* (Martínez-de la Puente et al. 2020). En contraste, Heym et al. (2019) reportaron que las especies de mosquitos colectadas en dos zoológicos de Alemania no mostraron preferencias por ciertas especies de vertebrados, lo que sugiere un patrón oportunista; esto incluye especies exóticas que no se habían reconocido previamente como fuentes de ingesta de sangre y que probablemente nunca entrarían en contacto con dichos mosquitos en su hábitat natural.

El bajo número de ingestas de sangre identificadas de *Ae. aegypti*, *Ae. albifasciatus*, *Cx. chidestri* y *Cx. eduardoi* no permitió analizar en profundidad sus patrones de alimentación. Aunque se empleó un método de recolección estandarizado, al comparar los entornos es importante señalar que la granja de conejos era más pequeña en comparación con, por ejemplo, los campos de ganado, que abarcaban varias hectáreas de espacio abierto. Además los conejos estaban alojados en jaulas individuales, a diferencia de los perros y pollos que estaban en corrales comunitarios. Esta disposición pudo haber facilitado la recolección de hembras con ingesta de sangre en estrecha proximidad a los conejos, mientras que aquellas que se alimentaron de vertebrados más dispersos, como el ganado, eran más difíciles de colectar. La ausencia de *Ae. crinifer*, *Is. paranensis* y *Ps. ferox* fuera de la granja de conejos no permitió analizar en mayor profundidad sus patrones de alimentación, siendo esto una limitación del presente capítulo. Notablemente, hubo un único caso de una ingesta sanguínea de pollo tomada por un espécimen híbrido de *Cx. pipiens molestus* y *Cx. quinquefasciatus* en la granja de conejos, a pesar de la presencia de solo dos pollos en comparación con 133 conejos. Esta observación

sugiere fuertemente una preferencia por las aves; sin embargo, el tamaño limitado de la muestra impide una mayor interpretación de este hallazgo.

En resumen, este capítulo aporta información valiosa para llenar vacíos de información existentes sobre los patrones de ingesta sanguínea de culícidos en ambientes intervenidos por actividades humanas, como son los entornos rurales. Estos resultados destacan el papel crucial de la disponibilidad de vertebrados en dichos patrones, con los vertebrados sobreabundantes representando una alta proporción de las ingestas sanguíneas. El enfoque alternativo de “fijar el vertebrado” ofrece nuevas perspectivas sobre los efectos relativos de la disponibilidad de vertebrados en el ambiente frente a las tendencias innatas de las especies de mosquitos.

CAPÍTULO V

CONSIDERACIONES FINALES Y CONCLUSIONES

En este capítulo, se sintetizan y discuten los resultados presentados a lo largo de la tesis junto con algunas conclusiones generales en respuesta a las hipótesis formuladas al comienzo. Además, se discuten las limitaciones del estudio, se plantean recomendaciones y proyecciones para futuras investigaciones.

El presente trabajo de tesis inició atravesado por la emergencia sanitaria causada por COVID-19, lo cual significó no obtener los permisos para poder realizar determinadas actividades de campo y un limitado acceso a los laboratorios para el procesamiento del material colectado. Estas dificultades impulsaron y motivaron que el punto de partida sea un análisis exhaustivo del estado del conocimiento sobre los patrones de ingesta sanguínea de mosquitos en Sudamérica, resultando finalmente esto una contribución en si misma. Luego, la información novel obtenida a través de distintos enfoques metodológicos y diseños propuestos a lo largo de la tesis representa un aporte para los vacíos de información detectados en el continente. En particular, contribuye significativamente al conocimiento de los patrones de ingesta sanguínea de culícidos en usos del suelo urbanos y rurales de la Provincia de Buenos Aires, donde existía escasa información. En esta provincia, además de la contribución de la presente tesis, existen dos recientes trabajos realizados en haras, uno específicamente sobre los miembros del complejo *Cx. pipiens* (Cardo et al. 2023) y el otro sobre la comunidad de mosquitos en general (Cardo & Vezzani 2023). En conjunto, se ha incrementado la comprensión de las interacciones mosquito-hospedador en distintos entornos de la provincia.

Una breve comparación entre la revisión presentada en el Capítulo II, la información proporcionada por Cardo & Vezzani (2023) para la provincia, y los aportes originales desarrollados en los Capítulos III y IV de esta tesis señala que, el patrón de alimentación observado para las especies de mosquitos estudiadas es en general consistente, aunque se identifican algunos casos específicos con discrepancias (Tabla 5.1, Figura 5.1). Por ejemplo, para *Ae. aegypti* los patrones de alimentación son similares, alimentándose exclusivamente de humano tanto en estudios con trampas cebadas como en los realizados en esta tesis. Por otra parte, *Cx. quinquefasciatus* presentó un patrón generalista (humano-mamífero-ave-reptil-anfibio) en estudios previos, coincidiendo parcialmente con el presente estudio donde solo fue identificado sobre vertebrados de sangre caliente, i.e., endotérmicos (humano-mamífero-ave). En contraste, los patrones de alimentación observados para *Is. paranensis* proporcionan información diferente y complementaria. En este estudio se identificó alimentándose sobre conejo, mientras que trabajos previos lo habían colectado únicamente atraídos por humanos. También, la información obtenida en esta tesis complementa la información previa sobre los patrones de alimentación para otras especies, y/o representa los primeros datos registrados hasta la fecha mediante herramientas moleculares; e.g. *Cx. pipiens molestus*. Puntualmente, se presentan los primeros registros en Sudamérica sobre la identificación de ingesta sanguínea de *Ae. aegypti*, *Cx. bidens* e *Is. paranensis* mediante herramientas moleculares. A su vez, se reportan nuevos registros de hospedadores para *Ae. albifasciatus*, *Ae. crinifer*, *Cx. apicinus*, *Cx. chidesteri*, *Cx. dolosus*, *Cx. eduardoi*, *Cx. lahillei*, *Cx. pipiens molestus*, *Cx. quinquefasciatus*, y *Ps. ferox* (Tabla 5.1, Figura 5.1).

Tabla 5.1 Comparación de los patrones de ingesta sanguínea registrados en la revisión bibliográfica para Sudamérica, junto con recientes hallazgos reportados para la Provincia de Buenos Aires por Cardo & Vezzani (2023) y los resultados originales obtenidos de las especies de mosquitos analizadas en esta tesis. Las letras H, B, M, R y A corresponden a humano, ave, mamíferos, reptiles y anfibios, respectivamente. Número de ingestas sanguíneas identificadas entre {llaves}.

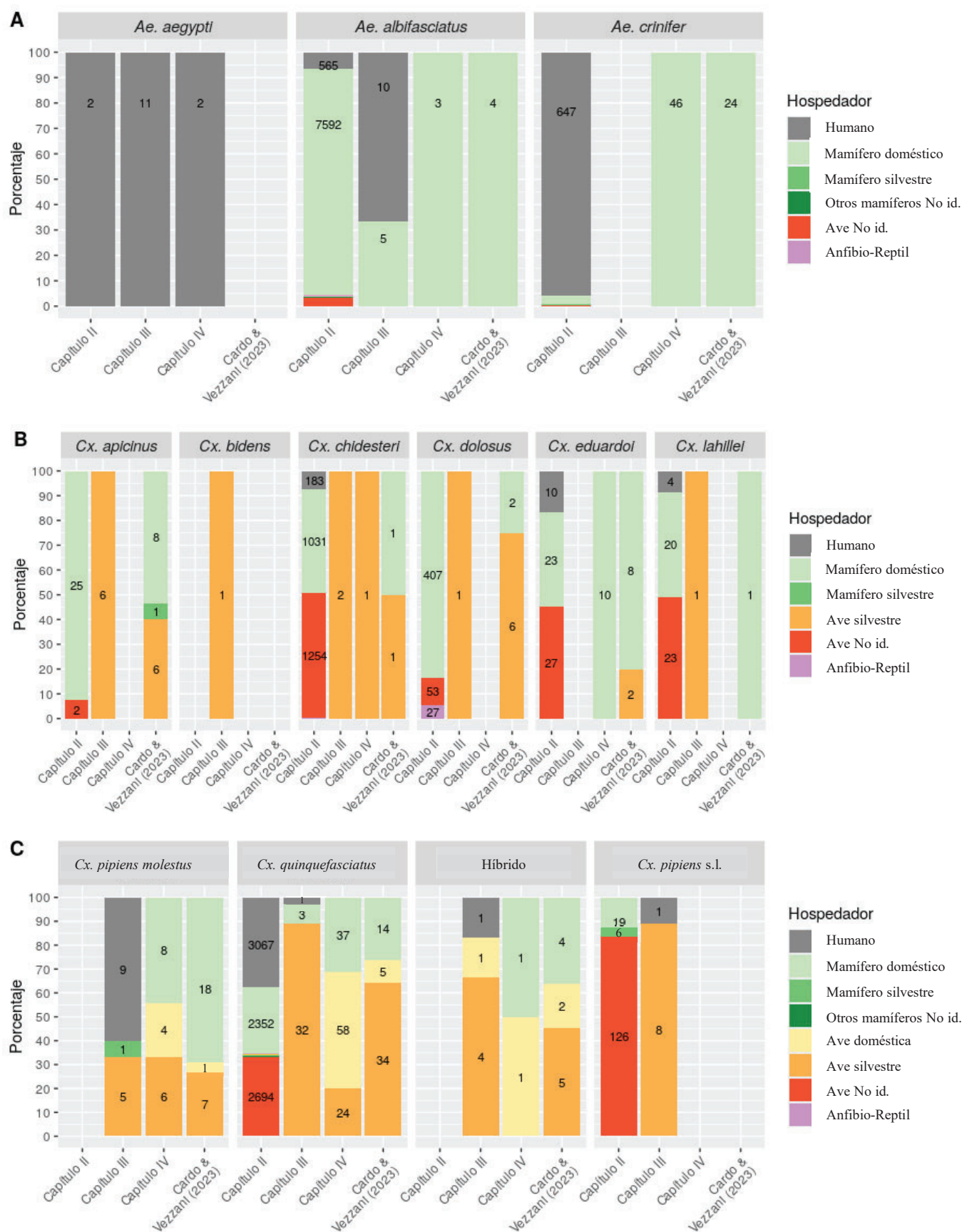
Especie	Patrones de alimentación registrados en Sudamérica (Capítulo II)				Capítulos III y IV Aportes de esta tesis	Patrones de alimentación reportados en esta tesis
	Cualitativo 1 (todos)	Cualitativo 2 (Trampas cebadas)	Cualitativo 3 (ID de la ingesta sanguínea)	Cardo & Vezzani (2023)	Hospedador ID	
<i>Ae. aegypti</i>	H	H			Humano {13}	H
<i>Ae. albifasciatus</i>	HBMRA	HBMRA	BM	M	Humano {10} <i>Bos taurus</i> {7} <i>Canis lupus</i> {1}	HM
<i>Ae. crinifer</i>	HBM	M	HBM	M	<i>Oryctolagus cuniculus</i> {46}	M
<i>Cx. apicinus</i>	BM	BM		BM	<i>Turdus rufiventris</i> {1} <i>Passer domesticus</i> {1} <i>Troglodytes aedon</i> {1} <i>Zenaida auriculata</i> {2} <i>Myiopsita monachus</i> {1}	B
<i>Cx. bidens</i>					<i>Parabuteo unicinctus</i> {1}	B
<i>Cx. chidesteri</i>	HBMRA	HBMRA	HB	BM	<i>Patagioenas picazuro</i> {2} <i>Turdus rufiventris</i> {1}	B
<i>Cx. dolosus</i>	BMRA	BMRA		BM	<i>Zenaida auriculata</i> {1}	B
<i>Cx. eduardoi</i>	HBM	HBM		BM	<i>Canis lupus</i> {1} <i>Oryctolagus cuniculus</i> {8} <i>Ovis aries</i> {1}	M
<i>Cx. lahillei</i>	HBM	HBM		M	<i>Aramides cajanea</i> {1}	B
<i>Cx. pipiens molestus</i>				BM	Humano {9} <i>Bos taurus</i> {2} <i>Canis lupus</i> {4} <i>Oryctolagus cuniculus</i> {2} <i>Myocastor coypus</i> {1} <i>Gallus gallus</i> {4} <i>Agelaioides badius</i> {1} <i>Mimus saturninus</i> {1} <i>Patagioenas picazuro</i> {2} <i>Sturnus vulgaris</i> {1} <i>Syrigma sibilatrix</i> {1} <i>Turdus rufiventris</i> {1} <i>Zenaida auriculata</i> {4}	HBM

Continuación Tabla 5.1

Especie	Patrones de alimentación registrados en Sudamérica (Capítulo II)				Capítulos III y IV Aportes de esta tesis	Patrones de alimentación reportados en esta tesis
	Cualitativo 1 (todos)	Cualitativo 2 (Trampas cebas)	Cualitativo 3 (ID de la ingesta sanguínea)	Cardo & Vezzani (2023)	Hospedador ID	
<i>Cx. quinquefasciatus</i>	HBMRA	HBMRA	HBMR	BM	Humano {1} <i>Bos taurus</i> {3} <i>Canis lupus</i> {33} <i>Felis catus</i> {1} <i>Oryctolagus cuniculus</i> {3} <i>Gallus gallus</i> {58} <i>Columba livia</i> {2} <i>Columbina picui</i> {2} <i>Furnarius rufus</i> {5} <i>Icterus cayanensis</i> {1} <i>Mimus saturninus</i> {5} <i>Nycticorax nycticorax</i> {1} <i>Parabuteo unicinctus</i> {1} <i>Patagioenas picazuro</i> {4} <i>Piranga flava</i> {1} <i>Syrigma sibilatrix</i> {1} <i>Troglodytes aedon</i> {3} <i>Turdus amaurochalinus</i> {1} <i>Turdus rufiventris</i> {11} <i>Zenaida auriculata</i> {18}	HBM
*Híbrido				BM	Humano {1} <i>Oryctolagus cuniculus</i> {1} <i>Gallus gallus</i> {2} <i>Patagioenas picazuro</i> {1} <i>Zenaida auriculata</i> {3}	HBM
** <i>Cx. pipiens</i> s.l.	BM	BM			Humano {1} <i>Furnarius rufus</i> {1} <i>Leptotila verreauxi</i> {1} <i>Patagioenas picazuro</i> {1} <i>Troglodytes aedon</i> {1} <i>Zenaida auriculata</i> {1} <i>Colaptes melanochloros</i> {1} <i>Mimus saturninus</i> {1} <i>Myiopsita monachus</i> {1}	HB
<i>Is. Paranensis</i>	H	H			<i>Oryctolagus cuniculus</i> {20}	M
<i>Ps. ferox</i>	HBM	HBM	HBM		<i>Oryctolagus cuniculus</i> {21}	M

*Forma híbrida entre *Cx. pipiens molestus* y *Cx. quinquefasciatus*.

**indica los miembros del complejo *Cx. pipiens*.



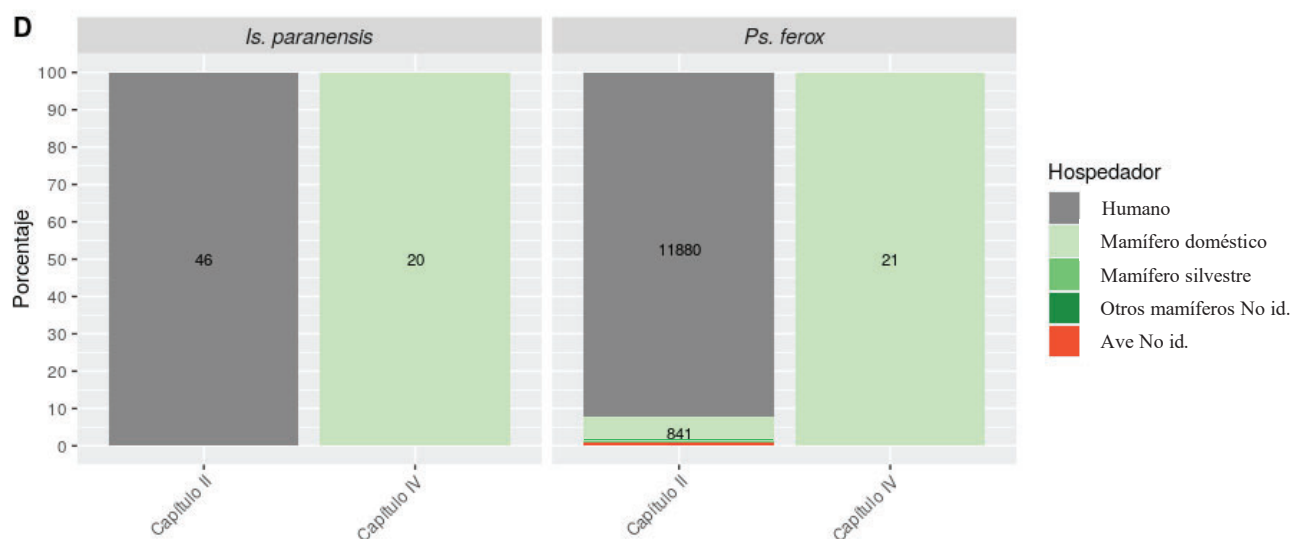


Figura 5.1 Comparación de los patrones de alimentación de mosquitos observados en la revisión presentada en el Capítulo II (Sudamérica), la información proporcionada por Cardo & Vezzani (2023) para la Provincia de Buenos Aires, y los aportes originales desarrollados en los Capítulos III y IV de esta tesis, considerando las especies de mosquitos estudiadas. Los hospedadores se agruparon en ocho categorías: a) humano; b) mamíferos domésticos (vaca, perro, gato, caballo, cabra, cerdo, conejo, roedor, oveja); c) mamífero silvestre (e.g. zarigueya, mono, liebre, coipo, paca); d) aves domésticas (pollo); e) aves silvestres; f) anfibio-reptil (sapo, tortuga); f) otros mamíferos no identificados (No id.); g) ave No id.

En esta tesis se observó que ambos miembros del complejo *Cx. pipiens* presentes en la región, *Cx. quinquefasciatus* y *Cx. pipiens molestus*, se alimentaron de diversos vertebrados, incluyendo humano, otros mamíferos, aves silvestres y aves domésticas (Capítulos III y IV, Tabla 5.1, Figura 5.1). Recientemente, *Cx. pipiens pipiens* ha sido registrado por primera vez en Sudamérica en la Patagonia argentina (Cardo et al. 2024) y en la región norte, central y sur de Chile (Alvial et al. 2024). Aunque esta bioforma podría desempeñar un papel clave en la compleja red de ciclos de transmisión de encefalitis arbovirales, no se dispone de información sobre sus patrones de alimentación en el continente. Estudios previos en otras regiones han indicado que *Cx. pipiens pipiens* se considera ornitofágica, mientras que *Cx. pipiens molestus* y *Cx. quinquefasciatus* se consideran mamofágicas (Molaei et al. 2007, Huang et al. 2009, Jansen et al. 2009, Gomes et al. 2013, Fritz et al. 2015, Tiron et al. 2021). Esta afirmación ampliamente aceptada debería reevaluarse a la luz de hallazgos recientes, como los presentados en esta tesis y los reportados por Wehmeyer et al. (2024).

Respecto a *Ae. albifasciatus*, se observó consistentemente su alimentación sobre mamíferos tanto en ambientes urbanos como rurales; i.e. se alimentó de humanos, vacas y perros en distintos usos de

suelo urbano de localidades de distinto tamaño poblacional (Capítulo III) y exclusivamente de vacas en establecimientos rurales con sobreabundancia de las mismas (Capítulo IV). Otros autores han colectado especímenes de *Ae. albifasciatus* en trampas cebadas con caballos (Mitchell et al. 1985), pollos, conejos, sapos y tortugas (Almirón & Brewer, 1995) y humanos (Prosen et al. 1960, Hack et al. 1978). También se han identificado ingestas de sangre sobre humano (Cardo & Vezzani 2023). Asimismo, diversos estudios han demostrado la gran capacidad de *Ae. albifasciatus* para alimentarse de diferentes hospedadores, incluyendo reptiles y anfibios (Tabla 5.1, Figura 5.1). Por lo tanto, se puede concluir que esta especie utiliza una amplia gama de hospedadores y que sus patrones de alimentación pueden fluctuar según la disponibilidad de éstos en el ambiente, lo que sugiere un patrón generalista.

En los estudios a campo realizados en usos del suelo urbano y rurales (Capítulos III y IV, Tabla 5.1, Figura 5.1), *Ae. aegypti* fue registrado alimentándose exclusivamente de humanos, a pesar de que se le ha incriminado en la transmisión de *D. immitis*, un gusano que parasita principalmente perros en el área de estudio (Vezzani & Eiras 2016). Previas investigaciones en otros continentes han demostrado que esta especie se alimenta raramente de otros animales, como aves (gallinas) y otros mamíferos (gatos, perros y conejos), en proporciones significativamente menores en comparación con los humanos, especialmente cuando estos se encuentran en baja abundancia (Jansen et al. 2009, Sivan et al. 2015). Estos resultados sugieren la preferencia de *Ae. aegypti* por humanos y destacan la falta de información a escala continental sobre los patrones de ingesta sanguínea de determinadas especies de mosquitos que son reconocidos vectores de patógenos.

En relación a *Is. paranensis* y *Ps. ferox*, se observó que ambas especies se alimentaron de conejo en un establecimiento rural caracterizado por la sobreabundancia de este vertebrado (Capítulo IV). Únicamente dos estudios previos en Sudamérica han registrado especímenes de *Is. paranensis* atraídos hacia humanos (Kumm & Novis 1938, Loetti et al. 2007, Anexo 5.1). Para *Ps. ferox*, estudios con trampas cebadas han registrado especímenes atraídos hacia humano, conejo, caballo, mamíferos silvestres y aves, así como ingestas de sangre sobre humano, vaca, perro, caballo, roedor, otros mamíferos y aves, lo que sugiere un patrón de alimentación sobre endotérmicos (ver Anexo 2.2, Tabla 5.1, Figura 5.1). La información recopilada y los resultados obtenidos sugieren que, aunque las preferencias inherentes pueden observarse a nivel local, muchas especies están adaptadas para obtener sangre en diversas circunstancias, donde parece seleccionarse la especie de vertebrado más abundante.

En relación con la técnica de captura de ejemplares utilizada, la colecta activa mediante aspiradores a batería demostró ser particularmente eficaz y adecuada para los trabajos de campo realizados en

esta investigación. Esta metodología facilitó la captura de un gran número de ejemplares de distintas especies presentes en diferentes usos del suelo. Un aspecto destacable fue la mayor proporción de hembras alimentadas colectadas en comparación con lo que se suele registrar utilizando otros métodos de colecta, e.g., trampas de luz. Además, los aspiradores, debido a su diseño compacto y ligero, ofrecieron varias ventajas logísticas y de manejo durante los eventos de muestreo, lo que optimizó el trabajo de campo. Respecto a la identificación de las ingestas, las técnicas moleculares utilizadas en este estudio permitieron la identificación precisa de los hospedadores a nivel de especie.

En nuestro país, la información disponible relacionada con los patrones de ingesta sanguínea de mosquitos es limitada. La mayoría de los estudios fueron realizados en las provincias de Chaco, Santa Fe, Córdoba, Río Negro y Chubut, previo al desarrollo de las técnicas moleculares y se han enfocado en distinguir entre opciones fijas de hospedador mediante la utilización de trampas con cebos animales (e.g. Mitchell et al. 1987, Almirón & Brewer 1995, Stein et al. 2013). En la Provincia de Buenos Aires, donde habitan un tercio de la población nacional y se ha demostrado la circulación de diversos patógenos transmitidos por mosquitos, no se habían realizado estudios sobre los patrones de alimentación de los mismos hasta hace pocos años (Cardo et al. 2023, Cardo & Vezzani 2023). Por lo tanto, los resultados de esta tesis proporcionan información particularmente novedosa en la provincia pero también valiosa a nivel regional.

A continuación, se retoman las hipótesis planteadas al inicio de la tesis para concluir brevemente acerca de cada una.

Objetivo específico 1 (Capítulo II). Establecer una línea de base del estado de conocimiento de los patrones de ingesta sanguínea de mosquitos en Sudamérica.

Hipótesis 1a. Los patrones de ingesta sanguínea varían entre especies de mosquitos. ✓

La información recopilada a partir de 152 investigaciones realizadas en Sudamérica, que abarcan diversos enfoques de estudio, indica que los patrones de ingesta sanguínea varían considerablemente entre especies de mosquitos en términos de composición y proporción de sus hospedadores. Esto sugiere que los patrones de ingesta sanguínea están fuertemente influenciados por las preferencias innatas de las especies de mosquitos independientemente del ambiente en el que se encuentren. La información registrada sugiere que, en un ambiente homogéneo o ante una oferta determinada de hospedadores, algunas especies de mosquitos se alimentan de un taxón específico.

e.g., mamíferos. En contraste, otras especies exhiben un patrón más generalista, alimentándose de múltiples taxa.

Hipótesis 1b. El patrón de ingesta sanguínea observado para una misma especie de mosquito varía según la metodología de estudio utilizada. ✓

La comparación de los resultados entre los estudios que utilizan trampas con cebo y los que identifican la ingesta sanguínea de mosquitos recolectados en campo muestran que la descripción de los patrones de alimentación sanguínea de culícidos varía según el enfoque metodológico utilizado. En general, las trampas con cebo adicionaron principalmente humanos como hospedadores mientras que la identificación de la ingesta sanguínea agregó aves, reptiles, anfibios y otras categorías de hospedadores no humanos. De las 73 especies de mosquitos evaluadas mediante ambos métodos, sólo 17 mostraron resultados similares. Para las especies restantes, las listas de hospedadores se complementaron a través de la combinación de ambos enfoques. Aunque cada método aportó información diferente y complementaria, el segundo enfoque se considera presumiblemente de mayor relevancia epidemiológica. Sin embargo, cuando se persigue un estudio exhaustivo sobre los patrones de ingesta sanguínea y la preferencia de alimentación, estas metodologías son claramente complementarias e idealmente ambas deberían ser utilizadas.

Hipótesis 1c. Se desconocen los patrones de ingesta sanguínea de la mayoría de las especies de mosquitos en Argentina, así como en el resto del continente. ✓

En Argentina, así como en el resto del continente, más del 70% de las especies de culícidos carecen de información sobre sus patrones de ingesta sanguínea. En nuestro país, de las 247 especies de mosquitos registradas actualmente, se obtuvo información para el 26,5% (64 especies) a partir de 8 estudios recopilados hasta el 2020. De estos estudios (ver Anexo 2.2), dos utilizaron cebo humano como método de colecta para atraer mosquitos antropofílicos, tres evaluaron la selección de hospedador mediante trampas cebadas, uno utilizó técnicas serológicas y otro, herramientas moleculares para identificar la ingesta sanguínea de mosquitos colectados en campo. Además, una investigación utilizó dos enfoques simultáneos, trampas cebadas e identificación de la ingesta sanguínea por serología. Más recientemente, se publicaron dos investigaciones sobre la temática en instalaciones ecuestres urbanas y rurales de la Provincia de Buenos Aires (Cardo et al. 2023, Cardo & Vezzani 2023), las cuales sumadas a los resultados obtenidos en esta tesis aportan los primeros

datos para nueve especies más la forma híbrida entre *Cx. pipiens molestus* y *Cx. quinquefasciatus*, y nuevos registros para cinco especies utilizando técnicas moleculares.

A escala continental, de las 832 especies de mosquitos registradas en Sudamérica, solo se dispone de información sobre los patrones de alimentación sanguínea para aproximadamente el 30%. De estas especies, la mayoría ha sido investigada en un rango limitado de su distribución geográfica. Es relevante destacar que especies de gran importancia epidemiológica como *Ae. aegypti* han sido escasamente estudiadas, que muchas especies sospechosas de ser vectores de enfermedades poco conocidas apenas han sido incluidas en una investigación y que de la mayoría de las especies no hay información. En general, la información sobre los patrones de ingesta sanguínea de mosquitos es escasa o incluso nula en varios países del continente. Este vacío de conocimiento limita considerablemente nuestra comprensión de los patrones para la mayoría de especies, tanto a nivel local como regional.

Durante la última década, Argentina, al igual que otras regiones, se ha visto afectada por la emergencia y/o re-emergencia de enfermedades transmitidas por culícidos, lo que resalta la necesidad de realizar estudios adicionales para entender mejor la interacción mosquito-hospedador. Los resultados obtenidos en el Capítulo II nos permitieron establecer una línea de base del estado de conocimiento de los patrones de ingesta sanguínea de mosquitos en Sudamérica. Esperamos que esta información sirva como guía para futuras investigaciones.

Objetivo Específico 2 (Capítulo III). Comparar los patrones de ingesta sanguínea de mosquitos entre áreas verdes y domésticas del ambiente urbano en localidades de distinta densidad poblacional.

Hipótesis 2a. Las interacciones mosquito-hospedador varían entre usos del suelo de la misma localidad. ✓

Hipótesis 2b. Las interacciones mosquito-hospedador varían entre distintas localidades para un mismo uso del suelo urbano. ✓

Los resultados obtenidos en los ambientes urbanos respaldan estas hipótesis, evidenciando diferencias significativas en las interacciones mosquito-hospedador entre áreas verdes y domésticas dentro de una misma localidad y entre distintas localidades para un mismo uso del suelo urbano. Tanto en el AMBA como en Tandil, estas interacciones parecen estar determinadas en gran medida por la composición de la comunidad de mosquitos, que a su vez está influenciada por la diversidad

de hábitats acuáticos disponibles; e.g, tipo y estabilidad de los cuerpos de agua y estrategias de oviposición de los mosquitos (Cardo et al. 2011, 2012). Respecto a esto último, las especies estudiadas presentan distintas estrategias de oviposición. Por ejemplo, *Ae. albifasciatus* y *Ae. aegypti* depositan sus huevos en sustratos que están sujetos a inundaciones intermitentes, pero la primera lo hace en barro y la segunda en recipientes artificiales, lo que podría explicar sus abundancias en parques y ambientes domiciliarios, respectivamente.

Objetivo específico 3 (Capítulo IV). Evaluar los patrones de ingesta sanguínea de mosquitos comparando usos del suelo con una especie de vertebrado sobreabundante.

Hipótesis asociada: En presencia de un vertebrado sobreabundante, las especies de mosquitos se alimentan principalmente de este. ✓

Los resultados generales obtenidos respaldan esta hipótesis, sugiriendo que la abundancia del hospedador tiene una fuerte influencia en los patrones de alimentación de las especies de mosquitos analizadas. Asimismo, resaltan la necesidad de determinar las redes de interacción mosquito-hospedador en distintos escenarios locales para obtener una visión integral de su dinámica. La propuesta de diseño de mantener “fija” la abundancia de un vertebrado específico de manera mayoritaria y constante en el espacio y tiempo, proporcionó información relevante sobre el rol de la disponibilidad de hospedadores en la determinación de estos patrones, factor que a menudo no se considera en las investigaciones. Hasta donde sabemos, no existen estudios en el mundo que hayan utilizado este enfoque simultáneamente en entornos con distintos vertebrados sobreabundantes. Esta metodología no solo permitió superar ciertas dificultades y sesgos asociados a la estimación de la composición de la comunidad de diferentes vertebrados en el campo, sino que también facilitó la comprensión de los patrones de alimentación de culícidos en diferentes usos del suelo y sus implicancias en la transmisión de patógenos.

Aportes a la epidemiología de las enfermedades vectoriales

Varias especies de mosquitos registradas en esta investigación están involucradas en la transmisión de patógenos a humanos y otros vertebrados, o se han encontrado infectadas naturalmente con diferentes arbovirus o nematodos en la región de estudio (Contigiani et al. 2016, Vezzani & Eiras

2016). En particular, los miembros del complejo *Cx. pipiens* son ampliamente reconocidos como vectores de encefalitis arbovirales a nivel global (Vinogradova 2000). El presente estudio coincide con evidencia previa de que *Cx. pipiens molestus* y *Cx. quinquefasciatus* se alimentan de diversos vertebrados. Aunque ambas especies han sido tradicionalmente descritas en la literatura como mamofágicas (Vinogradova 2000), estudios más recientes han reportado que también se alimentan de aves (e.g. Gomes et al. 2013, Cardo et al. 2023), destacando su potencial rol en los ciclos de transmisión de encefalitis arbovirales de nuestra región. Además, dada la identificación de ingestas de humanos y caballos, también podrían actuar como vectores puente de encefalitis arbovirales hacia mamíferos. Yee et al. (2022) identificaron a *Cx. quinquefasciatus* como la especie con el mayor número de conexiones en un estudio que utilizó redes bipartitas para describir las relaciones entre mosquitos vectores y patógenos a escala global. La naturaleza sinantrópica de esta especie enfatiza aún más su rol como vector de patógenos urbanos (Taipe-Lagos & Natal 2003).

De las 21 especies de aves identificadas como hospedadores en esta tesis, nueve se han encontrado naturalmente infectadas con los virus de la ESL y del VNO y cuatro solo con ESL (Díaz et al. 2011, 2018). Entre estas, la paloma torcaza (*Z. auriculata*) es una de las especies más relevantes en la propagación y amplificación de estos virus en el centro de Argentina (Díaz et al. 2018). También es la paloma más ampliamente distribuida y abundante en Sudamérica, habitando principalmente en ambientes abiertos y alterados, incluidos pueblos y ciudades (Leveau & Zuria 2017). Los resultados presentados sugieren un riesgo potencial de transmisión del virus de la ESL y respaldan la hipótesis de que los requisitos y condiciones para la amplificación y el mantenimiento enzoótico de este virus pueden existir en ambientes urbanos y rurales de la región templada de Argentina. Esto coincide con los casos humanos registrados previamente en las provincias de Buenos Aires, Chaco, Córdoba, Entre Ríos, Formosa, Mendoza, San Juan, San Luis, Santa Fé, Santiago del Estero, Tucumán (Mettler et al. 1983, Glowacki et al. 1998, Spinsanti et al. 2000, Spinsanti et al. 2002, Spinsanti et al. 2008, Seijo et al. 2011, Ministerio de Salud 2013, 2016, 2017, 2019, 2020, 2022, Contigiani et al. 2016, Tasca et al. 2016, Díaz et al. 2018). Si bien no se han registrado casos clínicos de ESL en caballos, se han detectado anticuerpos en las provincias de Buenos Aires, Chaco, Córdoba, Corrientes, Santa Fé y Santiago del Estero (Mettler et al. 1985, Monath et al. 1985, Oria et al. 2018, Albrieu-Llinas et al. 2021).

Desde una perspectiva epidemiológica, la superposición temporal y espacial entre los mosquitos vectores y hospedadores competentes puede promover la emergencia de enfermedades zoonóticas. Por ejemplo, durante los brotes de VNO en América del Norte, los casos en humanos aparecieron poco después de que los mosquitos pasaran de alimentarse de sus hospedadores aviares preferidos

(*Turdus migratorius*) a alimentarse de mamíferos, incluidos los humanos, tras la migración de las aves (Kilpatrick et al. 2006a,b). En este sentido, se requieren más estudios para investigar la relación entre las especies de aves locales abundantes y los mosquitos, con el fin de comprender su rol en el ciclo enzoótico del virus de la ESL. La identificación de la ingesta de sangre de *G. gallus* también es relevante, ya que los pollitos han demostrado ser altamente competente para el virus de la ESL, desarrollando viremias elevadas hasta el quinto día (Díaz et al. 2013).

En relación con *Ae. albifasciatus*, su alimentación sobre animales domésticos y humanos reviste gran importancia sanitaria, ya que puede contribuir a la transmisión de patógenos que causan graves enfermedades, como la dirofilariasis y el virus de la ESL. Además, esta especie ha sido identificada como el principal vector en la reciente epidemia del virus de la EEO en Argentina, que ha provocado más de 1.500 brotes equinos y 107 casos humanos en todo el país (BEN 2024). Para *Ae. aegypti*, si bien el número de ejemplares con ingesta de sangre identificada fue muy bajo, nuestros resultados son consistentes en que esta especie presenta un alto nivel de contacto con humanos, incrementando el riesgo potencial de transmisión de patógenos por mosquitos infectados en ambientes urbanos (Harrington et al. 2001).

Aunque en el presente estudio no se identificaron ingestas de sangre de humano para algunas especies mencionadas dentro del género *Culex*, no debe descartarse su rol potencial como vectores regionales de relevancia zoonótica, ya que, por ejemplo *Cx. apicinus* ha sido encontrado naturalmente infectado con ESL (Díaz et al. 2012). Por su parte, *Cx. dolosus* ha estado involucrado en la transmisión de *D. immitis* (Yee et al. 2022), una enfermedad de relevancia veterinaria a nivel mundial y en particular para la región de estudio (Vezzani & Eiras 2016). En cuanto a *Cx. bidens*, *Cx. chidesteri*, *Cx. eduardoi* y *Cx. lahillei*, se desconoce su rol potencial en la transmisión de enfermedades. Sin embargo, nuevas enfermedades vectoriales emergen constantemente y contar con información de base sobre los patrones de ingesta sanguínea de las especies de mosquitos presentes en la región puede resultar de futura utilidad. La investigación continua en este campo es necesaria para gestionar eficazmente los riesgos que plantean las enfermedades transmitidas por mosquitos.

Limitaciones

Entre las limitaciones del presente trabajo, es importante mencionar en primer lugar que debido a restricciones presupuestarias solo fue posible secuenciar un número limitado de ingestas sanguíneas. Esta limitación económica resultó en la necesidad de priorizar el número de especímenes por especie analizada. En el caso de las especies para las cuales se colectó un gran número de

individuos, se decidió priorizar el tamaño de muestra para aquellas que carecían de información sobre sus patrones de alimentación. Esta estrategia permitió obtener nuevos datos sobre especies menos estudiadas, e.g., *Is. paranensis*, pero también significó limitar el análisis exhaustivo de otras especies con un número elevado de ejemplares colectados (e.g. *Cx. quinquefasciatus*). Además, la presencia de distintas especies de mosquitos en diferentes usos del suelo, tanto urbanos como rurales, el bajo número de ejemplares colectados para ciertas especies en algunos entornos y campañas, y las restricciones en la colecta de mosquitos debido a razones regulatorias en determinados entornos, impidieron profundizar el análisis de los patrones de ingesta sanguínea de algunas especies de mosquitos considerando diferentes entornos y/o su estacionalidad. Finalmente, el bajo número de muestras identificadas para algunas especies debido a la falta de amplificación de las ingestas de sangre, podría deberse al índice Sella que puede incidir en el éxito de la amplificación (Cardo et al. 2023) o en algunos casos a prolongados tiempos de almacenamiento que podrían afectar el rendimiento de la PCR (Reeves et al. 2016).

A pesar de estas limitaciones, las preguntas formuladas al inicio de esta investigación abren un amplio espectro de posibilidades para futuros estudios, destacando la complejidad y los nichos aún por cubrir sobre la interacción mosquito-hospedador a nivel local y regional. Entre los aspectos fundamentales de los patrones de ingesta de mosquitos en la provincia de Buenos Aires que restan por explorar, podemos mencionar el estudio de ambientes silvestres, el análisis de las variaciones estacionales, la realización de estudios a escala regional que involucren un mayor número de especímenes y más réplicas de los sitios de muestros. Futuras investigaciones en este campo son necesarias para seguir avanzando en la comprensión de las complejas interacciones mosquito-hospedador, un campo de estudio que aún presenta escasa información en nuestro continente. ¡Queda aún camino por recorrer!

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Achee NL, Youngblood L, Bangs M, Lavery J & James S (2015) Considerations for the use of human participants in vector biology research: a tool for investigators and regulators. *Vector Borne Zoonotic Diseases* **15**:89-102.
- Albaladejo C, Barthe L, Bustos R, Iscaro M, Petrantonio M & Taulelle F (2017) The role of intermediate cities in Argentinan Pampa in the Province of Buenos Aires regarding the structuration of agrarian areas: an analysis of governance process in three municipalities. *Territoire en mouvement Revue de géographie et aménagement* **33**:1-21.
- Albrieu-Llinás G, Gallardo R, Konigheim BS, Quaglia AI, Mariño B, Curiotti J, Mazzini R & Contigiani MS (2021) Arbovirus serosurvey (Orthobunyavirus, Flavivirus, and Alphavirus) in a draft horse population from Santa Fe, Argentina (2013-2016). *Archives of Virology* **166**:881-884.
- Alencar J, Lorosa E, Dos Santos Silva J, Lopes C & Guimarães A (2005) Observações sobre padrões alimentares de mosquitos (Diptera: Culicidae) no pantanal Mato-Grossense. *Neotropical Entomology* **34**:681-687.
- Almeida-Neto M, Guimarães P, Guimarães PR, Loyola RD & Ulrich W (2008) A consistent metric for nestedness analysis in ecological systems: reconciling concept and measurement. *Oikos* **117**:1227-1239.
- Almirón WR & Brewer MM (1995) Host preference of Culicidae (Diptera) collected in central Argentina. *Revista de Saúde Pública* **29**:108-114.
- Alvial I, Hernández-P R, Suazo M, González C, Véliz D, Benítez H (2024) Unraveling biotypes of the northern house mosquito, *Culex pipiens* s.l. (Diptera: Culicidae): molecular differentiation and morphometric analysis. *Journal of Insect Science* **24**:1.
- Anderson RC (2000) Nematode parasites of vertebrates: their development and transmission. CAB International, Wallingford.
- Andersson E (2006) Urban landscapes and sustainable cities. *Ecology and Society* **11**:34.
- Ayala SE, Morales MA & Enría D. Reemergencia de la encefalitis equina del oeste (WEEV) en la Argentina: una revisión de aspectos epidemiológicos, virológicos y clínicos de relevancia. *Actualizaciones en Sida e Infectología* **32**:63-78.
- Bahnck CM & Fonseca DM (2006) Rapid assay to identify the two genetic forms of *Culex* (*Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae) and hybrid populations. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **75**:251-255.
- Balashov Y (1984) Interaction between blood-sucking arthropods and their hosts, and its influence on vector potential. *Annual Review of Entomology* **29**:137-56.
- Baldini F, Gabrieli P, Rogers D & Catteruccia F (2013) Function and composition of male accessory gland secretions in *Anopheles gambiae*: a comparison with other insect vectors of infectious diseases. *Pathogens Global Health* **106**:82-93.

- Banco Mundial (2023) Urban population (% of total population). Disponible en <https://data.worldbank.org/indicator/SP.URB.TOTL.IN.ZS?view=map>.
- Banco Mundial (2024) Estimaciones de personal del Banco Mundial sobre la base de las Perspectivas de la urbanización mundial de las Naciones Unidas. Disponible en <https://datos.bancomundial.org/indicador/SP.URB.GROW>.
- Barbosa A, Navarro-Silva MA & Calado D (2003) Atividade de Culicidae em remanescente florestal na região urbana de Curitiba (Paraná, Brasil). *Revista Brasileira de Zoologia* **20**:59-63.
- Barredo E & DeGennaro M (2020) Not just from blood: Mosquito nutrient acquisition from nectar sources. *Trends in Parasitology* **36**:473-484.
- Bascompte J, Jordano P & Olesen JM (2006) Asymmetric coevolutionary networks facilitate biodiversity maintenance. *Science* **312**:431-433.
- Bataille A, Fournié G, Cruz M, Cedeño V, Parker P, Cunningha A & Goodman S (2012) Host selection and parasite infection in *Aedes taeniorhynchus*, endemic disease vector in the Galápagos Islands. *Infection, Genetic and Evolution* **12**:1831-1841.
- Batallán G, Konigheim B, Quaglia A, Rivarola M, Beranek M, Tauro L, Flores S, Laurito M, Almirón W, Contigiani M & Visintin A (2020) Autochthonous circulation of Saint Louis encephalitis and West Nile viruses in the Province of La Rioja, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología* **53**:154-161.
- Beklemishev VN (1957) Some general questions on the biology of bloodsucking lower flies. *Meditinskaya parazitologiya i parazitarnye bolezni* **5**:562-6.
- Bellekom B, Hackett TD & Lewis OT (2021) A network perspective on the vectoring of human disease. *Trends in Parasitology* **37**:391-400.
- BEN (2024) Boletín Epidemiológico Nacional N° 733, Semana Epidemiológica 48. Argentina: Ministerio de Salud.
- Bentley MD & Day FJ (1989) Chemical ecology and behavioural aspects of mosquito oviposition. *Annual Review of Entomology* **34**:401-421.
- Bidlingmayer WL (1985) The measurement of adult mosquito population changes – some considerations. *Journal of the American Mosquito Control Association* **1**:328-348.
- Blom R, Krol L, Langezaal M, Schrama M, Trimbos K, Wassenaar D & Koenraad C (2024) Blood-feeding patterns of *Culex pipiens* biotype *pipiens* and *pipiens/molestus* hybrids in relation to avian community composition in urban habitats. *Parasites & Vectors* **17**:95.
- Blüthgen N, Menzel F & Blüthgen N (2006) Measuring specialization in species interaction networks. *BMC Ecology* **6**:9.
- Borcherding RK, Huang AT, Mier-Y-Teran-Romero L, Rojas DP, Rodríguez-Barraquer I, Katzelnick LC, Martinez SD, King GD, Cinkovich SC, Lessler J & Cummings DAT (2019) Impacts of Zika emergence in Latin America on endemic dengue transmission. *Nature communications* **10**:5730.

- Boreham PFL & Lenahan JK (1976) Methods for detecting multiple blood-meals in mosquitoes (Diptera, Culicidae). *Bulletin of Entomological Research* **66**:671-679.
- Boyd MF (1930) An introduction to malariology. Harvard University Press, Cambridge.
- Briegel H (1985) Mosquito reproduction: incomplete utilization of the blood meal protein for oogenesis. *Journal of Insect Physiology* **31**:15-21.
- Briggs C, Osman R, Newman B, Fikrig K, Danziger P, Mader E, Colburn M, Harrington L & Moncayo A (2023) Utilization of a zoo por mosquito (Diptera: Culicidae) diversity analysis, arboviral surveillance, and blood feeding patterns. *Journal of Medical Entomology* **XX**:1-12.
- Bruce-Chwatt LJ, Garrett-Jones C & Weitz B (1966) Ten years' study (1955-64) of host selection by Anopheline mosquitos. *Bulletin of the World Health Organization* **35**:405-439.
- Brugman V (2016) Host selection and feeding preferences of farm-associated mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the United Kingdom. PhD thesis, London School of Hygiene & Tropical Medicine. **276 págs.**
- Burkett-Cadena ND, Bingham AM, Porterfield C & Unnasch TR (2014) Innate preference or opportunism: mosquitoes feeding on birds of prey at the Southeastern Raptor Center. *Journal of Vector Ecology* **39**:21-31.
- Bursaly F & Touray M (2024) The complexities of blood-feeding patterns in mosquitoes and sandflies and the burden of disease: A minireview. *Veterinary Medicine and Science* **10**:e1580.
- Camacho-Gómez M & Zuleta LP (2019) First report of *Aedes* (Stegomyia) *albopictus* (Skuse) in Orinoquia region of Colombia. *Biomédica* **39**:785-797.
- Cardo MV, Vezzani D & Carbajo A.E (2011) Community structure of groundwater breeding mosquitoes driven by land use in a temperate wetland of Argentina. *Acta Tropica* **119**:76-83.
- Cardo MV, Vezzani D & Carbajo AE (2012) Oviposition strategies of temporary pool mosquitoes in relation to weather, tidal regime and land use in a temperate wetland. *Bulletin of Entomological Research* **102**:651-662.
- Cardo MV, Rubio A, Junges M, Vezzani D & Carbajo AE (2018) Heterogeneous distribution of *Culex pipiens*, *Culex quinquefasciatus* and their hybrids along the urbanisation gradient. *Acta Tropica* **178**:229-235.
- Cardo MV, Rubio A, Junges MT, Vezzani D & Carbajo AE (2020) A rural-urban latitudinal study of the distributions of *Culex quinquefasciatus* and *Culex pipiens* bioforms in their southernmost sympatric fringe. *Medical and Veterinary Entomology* **34**:34-43.
- Cardo MV, Carbajo AE, Mozzoni C, Kliger M & Vezzani D (2023) Blood feeding patterns of the *Culex pipiens* complex in equestrian land uses and their implications for arboviral encephalitis risk in temperate Argentina. *Zoonoses and Public Health* **70**:256-268.
- Cardo MV & Vezzani D (2023) Host-mosquito interactions in rural and urban equestrian facilities from temperate Argentina. *Medical and Veterinary Entomology* **37**:816-825.

- Cardo MV, Rubio A, Carbajo AE & Vezzani D (2024) Exploring the range of *Culex* mosquitoes in Western Argentinean Patagonia, unveiling the presence of *Culex pipiens* bioform *pipiens* in South America. *Parasitology Research* **123**:151.
- Cassone BJ, Pilling BG, Borrego-Benjumea A & LeMoine C (2024) Identification of nectar sources foraged by female mosquitoes in Canada. *Journal of Insect Science* **24**:11;ieae033.
- CDC (2019) Parasites – Lymphatic Filariasis. Centers for Disease Control and Prevention. Disponible en <https://www.cdc.gov/dpdx/lymphaticfilariasis/> Accessed March 2024.
- CDC (2024) El virus del Oropuche. Centers for Disease Control and Prevention. Disponible en <https://www.cdc.gov/oropouche/es/about/index.html>. Accessed November 2024.
- Cebrián-Camisón S, Martínez-de la Puente J & Figuerola J (2020) Review: A literature review of host feeding patterns of invasive *Aedes* mosquitoes in Europe. *Insects* **11**:848.
- CEPAL, Comisión Económica para América Latina y el Caribe (2017) Desarrollo sostenible, urbanización y desigualdad en América Latina y el Caribe. Dinámicas y desafíos para el cambio estructural. <https://www.cepal.org/es/temas/proyecciones-demograficas/estimaciones-proyecciones-poblacion-total-urbana-ruraleconomicamente-activa>.
- Chamberlain RW & Sudia WD (1961) Mechanism of Transmission of Viruses by Mosquitoes. *Annual Review of Entomology* **6**:371–90.
- Chandler JA, Highton RB & Boreham PFL (1976a) Studies on some ornithophilic mosquitoes (Diptera: Culicidae) of the Kano Plain, Kenya. *Bulletin of Entomological Research* **66**:133-143.
- Chandler JA, Highton RB & Hill MN (1976b) Mosquitoes of the Kano Plain, Kenya. II. Results of outdoor collections in irrigated and nonirrigated areas using human and animal bait and light traps. *Journal of Medical Entomology* **13**:202-207.
- Charlwood JD, Graves PM & de Marshall TF (1988) Evidence for a memorized home range in *Anopheles farauti* females from Papua New Guinea. *Medical and Veterinary Entomology* **2**:101-108.
- Chaves LF, Harrington LC, Keogh CL, Nguyen AM & Kitron UD (2010) Blood feeding patterns of mosquitoes: random or structured? *Frontiers in zoology* **7**:1-11.
- Chen LH & Wilson M (2020) Yellow fever control: current epidemiology and vaccination strategies. *Tropical Diseases, Travel Medicine and Vaccines* **6**:1.
- Chuang TW, Hockett CW, Kightlinger L & Wimberly MC (2012) Landscape-level spatial patterns of West Nile Virus risk in the Northern Great Plains. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **86**:724-731.
- Chung WY, Gardiner DL, Hyland C, Gatton M, Kemp DJ & Trenholme KR (2005) Enhanced invasion of blood group A1 erythrocytes by *Plasmodium falciparum*. *Molecular and Biochemical Parasitology* **144**:128-130.

- Clark GG, Seda H & Gubler DJ (1994) Use of the “CDC backpack aspirator” for surveillance of *Aedes aegypti* in San Juan, Puerto Rico. *Journal of the American Mosquito Control Association* **10**:119-124.
- Clements AN (1992) The biology of mosquitoes. Vol. 1. Development, nutrition and reproduction. *Chapman & Hall*, London.
- Clements AN (1999) The biology of mosquitoes. Vol. 2. Sensory, reception and behaviour. CABI Publishing, Wallingford.
- Climate-data.org (2023) CLIMATE: ARGENTINA. Disponible en <https://en.climate-data.org/south-america/argentina-11/>.
- Collins JP, Kinzig A, Grimm NB, Fagan WF, Hope D, Wu J & Borer ET (2000) A new urban ecology. Modeling human communities as integral parts of ecosystems poses special problems for the development and testing of ecological theory. *American Scientist* **88**:416-425.
- Contigiani MS, Díaz LA & Spinsanti LI (2016) Arbovirus. En: Berón C, Campos RE, Gleiser RM, Díaz Nieto LM, Salomón OD & Schweigmann N (eds). *Investigaciones sobre mosquitos de Argentina*. Primera edición. Universidad Nacional de Mar del Plata, Mar del Plata, **pp**:157-178.
- Corbet PS (1967) Facultative autogeny in arctic mosquitoes. *Nature* **215**:662-663.
- Coulson RM, Curtis CF, Ready PD, Hill N & Smith DF (1990) Amplification and analysis of human DNA present in mosquito bloodmeals. *Medical and Veterinary Entomology* **4**:357-366.
- Darbro JM, Dhondt AA, Vermeylen FM & Harrington LC (2007) Mycoplasma gallisepticum infection in house finches (*Carpodacus mexicanus*) affects mosquito blood feeding patterns. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **77**:488-494.
- Darling ST (1925) Entomological research in malaria. *Southern Medical Journal* **18**:446-449.
- Davis MW (2021) ApE - A plasmid Editor. <https://jorgensen.biology.utah.edu/wayned/ap/>
- de Carvalho GC, Malafronte Rdos S, Miti Izumisawa C, Souza Teixeira R, Natal L & Marrelli MT (2014) Blood meal sources of mosquitoes captured in municipal parks in São Paulo, Brazil. *Journal of Vector Ecology* **39**:146-52.
- Deane LM, Vernin CS & Damasceno RG (1949) Avaliação das preferências alimentares das fêmeas de *Anopheles darlingi* e *Anopheles aquasalis* em Belém, Pará, por meio de provas de precipitina. *Revista do Serviço Especial de Saúde Pública*, Rio de Janeiro **2**:793-808.
- Detinova TS, Beklemishev WN & Bertram DS (1962) Age-grouping methods in Diptera of medical importance with special reference to some vectors of malaria. *Monograph Serie. World Health Organization* **47**:13-191.
- Díaz LA, Quaglia A, Flores FS & Contigiani MS (2011) Virus West Nile en Argentina: un agente infeccioso emergente que plantea nuevos desafíos. *Hornero* **26**:5-28.
- Díaz LA, Albrieu Llinás G, Vázquez A, Tenorio A & Contigiani MS (2012) Silent circulation of St. Louis encephalitis virus prior to an encephalitis outbreak in Cordoba, Argentina (2005). *PLoS Neglected Tropical Disease* **6**:e1489.

- Díaz LA, Flores FS, Beranek M, Rivarola ME, Almirón W & Contigiani M (2013) Transmission of endemic St Louis encephalitis virus strains by local *Cx. quinquefasciatus* populations in Córdoba, Argentina. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **107**:332-334.
- Díaz A, Flores FS, Quaglia AI & Contigiani MS (2018) Evaluation of Argentinean bird species as amplifying hosts for St. Louis Encephalitis Virus (Flavivirus, Flaviviridae). *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **99**:216-221.
- Dieng H, Satho T, Abang F, Binti Meli NK, Ghani I, Nolasco-Hipolito C, Hakim H et al. (2017) Sweet waste extract uptake by a mosquito vector: survival, biting, fecundity responses, and potential epidemiological significance. *Acta Tropica* **169**:84-92.
- Docena GH, Benítez P, Campos RE, Maciá A, Fernández R & Fossati CA (1999) Detection of allergens in *Aedes albifasciatus* mosquito (Diptera: Culicidae) extracts by immunological methods. *Journal of Investigational Allergology & Clinical Immunology* **9**:165-171.
- Dormann CF, Fründ J, Blüthgen N & Gruber B (2009) Indices, graphs and null models: Analyzing bipartite ecological networks. *The Open Ecology Journal* **2**:7-24.
- Dunne JA, Williams RJ & Martinez ND (2002) Network structure and biodiversity loss in food webs: robustness increases with connectance. *Ecology Letters* **5**:558-567.
- Edman JD (1971) Host-Feeding Patterns of Florida Mosquitoes I. *Aedes*, *Anopheles*, *Coquillettidia*, *Mansonia*, and *Psorophora*. *Journal of Medical Entomology* **8**:687-695.
- Edman JD, Strickman D, Kittayapong P & Scott TW (1992) Female *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Thailand rarely feed on sugar. *Journal of Medical Entomology* **29**:1035-1038.
- Egas M, Dieckmann U & Sabelis MW (2004) Evolution restricts the coexistence of specialists and generalists: the role of trade-off structure. *The American Naturalist* **163**:518-531.
- Eldridge B (2005) Mosquitoes, the Culicidae. En: Biology of disease vectors. 2º Edic. Marquardt WC, Kondratieff BC (Edit.). Elsevier Academic Press, EE.UU. 95-111.
- Ellegren H (2000) Microsatellite mutations in the germline: implications for evolutionary inference. *Trends in Genetics* **16**:551-558.
- Farajollahi A, Fonseca D, Kramer LD & Kilpatrick AM (2011) “Bird biting” mosquitoes and human disease: a review of the role of *Culex pipiens* complex mosquitoes in epidemiology. *Infection, Genetics and Evolution* **11**:1577-1585.
- Farnesi LC, Carvalho F, Lacerda AP, Moreira L & Bruno R (2021) The influence of different sources of blood meals on the physiology of *Aedes aegypti* harboring *Wolbachia* wMel: mouse blood as an alternative for mosquito rearing. *Parasites & Vectors* **24**:21.
- Field E, Gehrke E, Ruden R, Adelman J & Smith R (2020) An improved multiplex polymerase chain reaction (PCR) assay for the identification of mosquito (Diptera: Culicidae) blood meals. *Journal of Medical Entomology* **57**:557-562.
- Fikrig K & Harrington LC (2021) Understanding and interpreting mosquito blood feeding studies: the case of *Aedes albopictus*. *Trends in Parasitology* **37**:959-975.

- Fikrig K, Martin E, Dang S, St Fleur K, Goldsmith H, Qu S, Rosenthal H, Pitcher S & Harrington L (2021) The effects of host availability and fitness on *Aedes albopictus* blood feeding patterns in New York. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **106**:320-331.
- Forattini OP, de Castro Gomes A, Natal D, Kakitani I & Marucci D (1987) Preferencias alimentares de mosquitos Culicidae no Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil. *Revista de Saúde Pública* **21**:171-187.
- Forattini OP (2002) Culicidologia médica. Editora da USP, San Pablo, Brasil. pp:860.
- Foster WA (1995) Mosquito sugar feeding and reproductive energetics. *Annual Review of Entomology* **40**:443-474.
- Friend WG & Smith JJB (1977) Factors affecting feeding by bloodsucking insects. *Annual Review of Entomology* **22**:309-331.
- Fritz ML, Walker ED, Miller JR, Severson DW & Dworkin I (2015) Divergent host preferences of above- and below-ground *Culex pipiens* mosquitoes and their hybrid offspring. *Medical and Veterinary Entomology*. **29**:115-23.
- Gallardo R, Albrieu G, Laurito M, Mansilla A, Beranek m, Contigiani M & Spinsanti L (2019) Primera evidencia de circulación de virus Bunyamwera orthobunyvirus en la provincia de Formosa. XX Jornada de Investigación Científica, Córdoba.
- Gallego MA, Simoy MV & Vezzani D (2024) Citizen complaints in local media as source of mosquito data: the case of *Aedes albifasciatus* in an intermediate city of temperate Argentina. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias* **96**:20240477.
- Gary RE, Cannon J & Foster W (2009) Effect of sugar on male *Anopheles gambiae* mating performance, as modified by temperature, space, and body size. *Parasites & Vectors* **2**:19.
- Giglioli G (1963) Ecological change as a factor in renewed malaria transmission in an eradicated area. A localized outbreak of *A. aquasalis*-transmitted malaria on the Demerara River Estuary, British Guiana, in the fifteenth year of *A. darlingi* and malaria eradication. *Bulletin of the World Health Organization* **29**:131-145.
- Glowacki G, Spinsanti L, Basualdo M, D'iaz G & Contigiani M (1998) Prevalencia de anticuerpos contra Flavivirus en jóvenes voluntarios ingresantes al servicio militar de la provincia de Formosa, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología* **30**:170-175.
- Go YY, Balasuriya UB & Lee CK (2014) Zoonotic encephalitides caused by arboviruses: transmission and epidemiology of alphaviruses and flaviviruses. *Clinical and Experimental Vaccine Research* **3**:58-77.
- Gomes LAM, Duarte R, Lima DC, Diniz BS, Serrão ML & Labarthe N (2001) Comparison between precipitin and ELISA tests in the bloodmeal detection of *Aedes aegypti* (Linnaeus) and *Aedes fluviatilis* (Lutz) mosquitoes experimentally fed on feline, canine, and human hosts. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **96**:693-695.
- Gomes B, Sousa C, Vicente JL, Pinho L, Calderón I, Arez E, Almeida A, Donnelly M & Pinto J (2013) Feeding patterns of *molestus* and *pipiens* forms of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) in a region of high hybridization. *Parasites & Vectors* **6**:93.

- Goodman H, Egizi A, Fonseca DM, Leisnham PT & LaDeau SL (2018) Primary blood-hosts of mosquitoes are influenced by social and ecological conditions in a complex urban landscape. *Parasites & Vectors* **11**:218.
- Gouagna LC, Kerampran R, Lebon C, Brengues C, Toty C, Wilkinson D, Boyer S & Fontenille D (2014) Sugar-source preference, sugar intake and relative nutritional benefits in *Anopheles arabiensis* males. *Acta Tropica* **132**:S70-S79.
- Gowda NN & Vijayan VA (1993) Biting density, behavior and age distribution of *Culex quinquefasciatus*, Say in Mysore City, India. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* **24**:152-6.
- Gratz NG (2004) Critical review of the vector status of *Aedes albopictus*. *Medical and Veterinary Entomology* **18**:215-227.
- Greenberg JA, DiMenna MA, Hanelt B & Hofkin BV (2012) Analysis of post-blood meal flight distances in mosquitoes utilizing zoo animal blood meals. *Journal of vector ecology* **37**:83-9.
- Groenewegen PP, Van den Berg AE, De Vries S & Verheij RA (2006) Vitamin G: effects of green space on health, well-being, and social safety. *BMC Public Health* **6**:149.
- Groseth A, Wollenberg KR, Mampilli V, Shupert T, Weisend C, Guevara C, Kochel TJ, Tesh RB & Ebihara H (2015) Spatiotemporal analysis of Guaroa virus diversity, evolution, and spread in South America. *Emerging Infectious Diseases* **21**:460-463.
- Hack WH, Torales GJ, Bar ME & Oscherov B (1978) Observaciones etológicas sobre culícidos de Corrientes. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* **37**:137-151.
- Harbach RE (2012) *Culex pipiens*: Species versus species complex – Taxonomic history and perspective. *Journal of the American Mosquito Control Association* **28**:10–23.
- Harbach (2024) Mosquito Taxonomic Inventory. <http://mosquito-taxonomic-inventory.info/>
- Harrington L, Edman JD & Scott TW (2001) Why do female *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) feed preferentially and frequently on human blood? *Journal of Medical Entomology* **38**:411-422.
- Hernandez-Colina A, Gonzalez-Olvera M, Lomax E, Townsend F, Maddox A, Hesson JC, Sherlock K, Ward D, Eckley L, Vercoe M, Lopez J & Baylis M (2021) Blood-feeding ecology of mosquitoes in two zoological gardens in the United Kingdom. *Parasites and Vectors* **14**:249.
- Hess AD, Hayes RO & Tempelis CH (1968) The use of the forage ratio technique in mosquito host preference studies. *Mosquito News* **28**:386-389.
- Heym EC, Kampen H, Schäfer M & Walther D (2019) Mosquito bloodmeal preferences in two zoological gardens in Germany. *Medical and Veterinary Entomology* **33**:203-212.
- Higgs S & Beaty BJ (2005) Cap. 14: Natural Cycles of Vector-Borne Pathogens. En: Biology of Disease Vectors. 2º Edic. Marquardt WC, Kondratieff BC, Moore CG, Freier JE, Hagedorn HH, Black WIII, James AA, Hemingway J, Higgs S. (Edit). Elsevier Academic Press, EE.UU. 167-185.

- Hopken MW, Reyes-Torres LJ, Scavo N, Piaggio AJ, Abdo Z, Taylor D, Pierce J & Yee DA (2021) Temporal and spatial blood feeding patterns of urban mosquitoes in the San Juan Metropolitan Area, Puerto Rico. *Insects* **12**:129.
- Hoyos Loaiza M (2018) Evaluación de redes de interacción mosquito-vertebrado a partir de disponibilidad hospederos y análisis de fuentes sanguíneas en un bosque fragmentado con potencialidad de ciclos enzoóticos en Colombia. Tesis de maestría, Universidad de los Andes, Colombia.
- Hoyos J, Carrasquilla MC, León C, Montgomery JM, Salyer S, Komar N & González C (2021) Host selection pattern and flavivirus screening of mosquitoes in a disturbed Colombian rainforest. *Scientific Reports* **11**:18656.
- Huang S, Hamer GL, Molaei G, Walker ED, Goldberg TL, Kitron UD & Andreadis TG (2009) Genetic variation associated with mammalian feeding in *Culex pipiens* from a West Nile virus epidemic region in Chicago, Illinois. *Vector Borne and Zoonotic Diseases* **9**:637-642.
- INDEC (2022) Instituto Nacional de Estadística y Censos. Censo nacional de población. Secretaría de planeación, Presidencia de la Nación, Argentina. Accessed 10 April 2024.
- Jansen CC, Webb CE, Graham GC, Craig SB, Zborowski P, Ritchie SA, Russel RC & van den Hurk AF (2009) Blood sources of mosquitoes collected from urban and peri-urban environments in eastern Australia with species-specific molecular analysis of avian blood meals. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **81**:849-857.
- Kandus P & Málvarez AI (2002) Las islas del Bajo Delta del Paraná. En: Borthagaray, J. M. (ed). El Río de La Plata como territorio. Buenos Aires. FADU. Edic. Infinito. **pp**:77-98.
- Karna AK, Azar SR, Plante JA, Yun R, Vasilakis N, Weaver SC, Hansen IA & Hanley KA (2018) Colonized *Sabethes cyaneus*, a sylvatic New World mosquito species, shows a low vector competence for Zika virus relative to *Aedes aegypti*. *Viruses* **10**:434.
- Kassambara A & Mundt F (2020) Factoextra: Extract and Visualize the Results of Multivariate Data Analyses. <https://CRAN.R-project.org/package=factoextra>.
- Kay BH, Boreham PFL & Edman JD (1979) Application of the feeding index concept to studies of mosquito host-feeding patterns. *Mosquito News* **39**:68-72.
- Kent RJ & Norris D (2005) Identification of mammalian blood meals in mosquitoes by a multiplexed polymerase chain reaction targeting cytochrome b. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **73**:336–342
- Kent RJ (2009) Molecular methods for arthropod bloodmeal identification and applications to ecological and vector-borne disease studies. *Molecular Ecology Resources* **9**:4-18.
- Keven J, Walker E & Venta P (2019) A microsatellite multiplex assay for profiling pig DNA in mosquito bloodmeals. *Journal of Medical Entomology* **56**:907-914.
- Kilpatrick AM, Kramer LD, Jones MJ, Marra PP & Daszak P (2006a) West Nile virus epidemics in North America are driven by shifts in mosquito feeding behaviour. *PLoS Biology* **4**:606-610.

- Kilpatrick AM, Daszak P, Jones MJ, Marra PP, Kramer LD (2006b) Host heterogeneity dominates West Nile virus transmission. *Proceedings of the Royal Society / Biological sciences* **273**:2327-2333.
- King WV & Bull CG (1923) The blood feeding habits of malaria-carrying mosquitoes. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **3**:497-513.
- Kirik H, Burtin V, Tummeleht L & Kurina O (2021) Friends in all the green spaces: weather dependent changes in urban mosquito (Diptera: Culicidae) abundance and diversity. *Insects* **12**:352.
- Komar N, Pollack RJ & Spielman A (1995) A nestable fiber pot for sampling resting mosquitoes. *Journal of the American Mosquito Control Association* **11**:463-467.
- Kraemer MU, Sinka ME, Duda KA, Mylne AQ, Shearer FM, Barker CM, Moore CG, Carvalho RG, Coelho GE, Van Bortel W, Hendrickx G, Schaffner F, Elyazar IR, Teng HJ, Brady OJ, Messina JP, Pigott DM, Scott TW, Smith DL, Wint GR, Golding N & Hay SI (2015) The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus*. *Elife* **4**:e08347.
- Kumm HW & Novis O (1938) Mosquito studies on the Ilha de Marajó, Pará, Brazil. *American Journal of Epidemiology* **27**:498-515.
- Kuno G & Chang G-JJ (2005) Biological transmission of arboviruses: reexamination of and new insights into components, mechanisms, and unique traits as well as their evolutionary trends. *Clinical Microbiology Reviews* **18**:608-637.
- Laporta G, Linton YM, Wilkerson RC, Sterlino Bergo E, Sayuri Nagaki S, Sant'Ana DC & Sallum MA (2015) Malaria vectors in South America: current and future scenarios. *Parasites & Vectors* **8**:426.
- Lardeux F, Loayza P, Bouchité B & Chavez T (2007) Host choice and human blood index of *Anopheles pseudopunctipennis* in a village of the Andean valleys of Bolivia. *Malaria Journal* **6**:1-14.
- Lee VH & Sanmartin C (1967) Isolations of Guaroa virus from *Anopheles* (Kerteszia) Neivai in the Pacific lowlands of Colombia. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **16**:778-781.
- Lee Y, Weakley AM, Nieman CC, Malvick J & Lanzaro GC (2015) A multi-detection assay for malaria transmitting mosquitoes. *Journal of Visualized Experiments* **96**:e52385.
- Lehane MJ (2005) The biology of blood-sucking in insects. Cambridge University Press, Cambridge.
- Leveau LM & Zuria I (2017) Flocking the city: avian demography and population dynamics in urban Latin America. *Avian Ecology in Latin American Cityscapes* **pp**:57-77.
- Li Y, Su X, Zhou G, Zhang H, Puthiyakunnon S, Shuai S, Cai S, Gu J, Zhou X, Yan G & Chen X-G (2016) Comparative evaluation of the efficiency of the BG-Sentinel trap, CDC light trap and Mosquito oviposition trap for the surveillance of vector mosquitoes. *Parasites & Vectors* **9**:446.

- Lizuain A, Muttis E, Leporace M, Cano ME, Acardi S, Gavier F, Ayala M, Brivido M, Marti G, Micieli MV & Manteca-Acosta (2024) Mosquito vectors of yellow fever virus in areas of epidemiological risk in northeastern Argentina. *Ecología Austral* **34**:393-400.
- Loetti V, Burrone N & Vezzani D (2007) Seasonal and daily activity patterns of human-biting mosquitoes in a wetland system in Argentina. *Journal of Vector Ecology* **32**:358-365.
- Logue K, Keven JB, Cannon MV, Reimer L, Siba P, Walker ED, Zimmerman PA & Serre D (2016) Unbiased characterization of Anopheles mosquito blood meals by targeted high-throughput sequencing. *PLoS Neglected Tropical Disease* **10**:1-18.
- Lounibos L (2002) Invasions by insect vectors of human disease. *Annual Review of Entomology* **47**:233-266.
- Lourenço de Oliveira R (2015) Transmissão vetorial. En: Valle D, Pimenta D, Cunha R (eds) Dengue: teorias e práticas. Editora Fiocruz, Rio de Janeiro, **pp**:127-146.
- Ludueña Almeida FF & Gorla DE (1995) The biology of *Aedes (Ochlerotatus) albifasciatus* Macquart, 1838 (Diptera: Culicidae) in Central Argentina. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **90**:463-468.
- Lyimo & Ferguson (2009) Ecological and evolutionary determinants of host species choice in mosquito vectors. *Trends in Parasitology* **25**:4.
- Main BJ, Lee Y, Ferguson HM, Kreppel KS, Kihonda A, Govella NJ, Collier TC, Cornel AJ, Eskin E, Kang EY, Nieman C, Weakley AM & Lanzaro GC (2016) The genetic basis of host preference and resting behavior in the major African malaria vector, *Anopheles Arabiensis*. *Plos Genetics* **12**:e1006303.
- Marconi PL, Perelman PE & Salgado VG (2022) Green in times of COVID-19: urban green space relevance during the COVID-19 pandemic in Buenos Aires City. *Urban Ecosystems* **25**:941-953.
- Martinez de la Puente J, Ruiz M, Soriguer R & Figuerola J (2013) Effect of blood meal digestion on the success of blood meal identification in the malaria vector *Anopheles atroparvus*. *Malaria Journal* **12**:109.
- Martínez-de la Puente J, Soriguer R, Senar JC, Figuerola J, Bueno-Mari R & Montalvo T (2020) Mosquitoes in an urban zoo: Identification of blood meals, flight distances of engorged females, and avian malaria infections. *Frontiers in veterinary science* **21**:7:460.
- Mattingley PF (1965) The evolution of parasite–arthropod vector systems. In A. E. R. Taylor (ed.), Symposium of the British Society for Parasitology. Oxford: Blackwell, Vol. 3.
- Meece JK, Reynolds CE, Stockwell PJ, Jensen TA, Christensen JE & Reed KD (2005) Identification of mosquito bloodmeal source by terminal restriction fragment length polymorphism profile analysis of the cytochrome b gene. *Journal of Medical Entomology* **42**:657-667.
- Meadows KE (1968) A simple method of mosquito ovary dissection. *The Florida Entomologist* **51**:31-35.

- Mendenhall IH, Tello SA, Neira LA, Castillo LF, Ocampo CB & Wesson DM (2012) Host preference of the arbovirus vector *Culex erraticus* (Diptera: Culicidae) at Sonso Lake, Cauca Valley Department, Colombia. *Journal of Medical Entomology* **49**:1092-1102.
- Mettler NE, Fernandez AS, Schettino AM, Di Santo MI & Pardo DA (1983) Infecciones humanas por Flavivirus en Tandil. *Revista de la Asociación Médica Argentina* **96**:105-7.
- Mettler NE, Fernández AS, Di Santo MI & Pardo DA (1985) Flavivirus: serological survey in horses from the Tandil area. *Revista Argentina de Microbiología* **17**:47-9.
- Migueltorena A (2019) Producción de la vivienda y mercado inmobiliario en la ciudad intermedia de Tandil (Argentina), a comienzos del siglo XXI. *Boletim Campineiro de Geografia* **9**:139-163.
- Ministerio de Salud, Argentina Dirección Nacional de Epidemiología y Análisis de la Situación de Salud. Boletín Integrado de Vigilancia N° 168 - SE 17 (2013) Available from: <https://bancos.salud.gob.ar/recurso/boletin-integrado-de-vigilancia-se17-n168-06052013>.
- Ministerio de Salud, Argentina. Dirección Nacional de Epidemiología y Análisis de la Situación de Salud. Boletín Integrado de Vigilancia N° 322 - SE 32 (2016) Available from: <https://bancos.salud.gob.ar/recurso/boletin-integrado-de-vigilancia-n322-se32-14082016>.
- Ministerio de Salud, Argentina Dirección Nacional de Epidemiología y Análisis de la Situación de Salud. Boletín Integrado de Vigilancia N° 391 - SE 51 (2017) Available from: <https://bancos.salud.gob.ar/recurso/boletin-integrado-de-vigilancia-n391-se51-26122017>.
- Ministerio de Salud, Argentina Dirección Nacional de Epidemiología y Análisis de la Situación de Salud. Boletín Integrado de Vigilancia N° 456 - SE 25 (2019) Available from: <https://bancos.salud.gob.ar/recurso/boletin-integrado-de-vigilancia-n456-se25-02072019>.
- Ministerio de Salud, Argentina. Dirección Nacional de Epidemiología y Análisis de la Situación de Salud. Boletín Integrado de Vigilancia N° 530 - SE 1-53 (2020) Available from: <https://bancos.salud.gob.ar/recurso/boletin-integrado-de-vigilancia-n530-se01-se53-2020>.
- Ministerio de Salud, Argentina. Dirección Nacional de Epidemiología y Análisis de la Situación de Salud. Boletín Integrado de Vigilancia N° 592 - SE 10 (2022) Available from: <https://bancos.salud.gob.ar/recurso/boletin-integrado-de-vigilancia-n592-se-10-2022>.
- Missiroli A & Hackett LW (1929) The precipitin test as a means of determining the source of anopheline blood-meals. Multigraphed League of Nations document C.H./Malaria/131.
- Mitchell CJ & Briegel H (1989) Inability of diapausing *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) to use blood for producing lipid reserves for overwinter survival. *Journal of Medical Entomology* **26**:318-326.
- Mitchell CJ (2001) Rocio encephalitis. En: Service MW (ed.). Encyclopedia of Arthropod-transmitted Infections of Man and Domesticated Animals. CABI, **pp**:434-437.
- Mitchell CJ, Darsie RF, Monath TP, Sabattini MS & Daffner JF (1985) The use of an animal-baited net trap for collecting mosquitoes during Western Equine Encephalitis investigations in Argentina. *Journal of the American Mosquito Control Association* **1**:43-47.

- Mitchell CJ, Monath TP, Sabattini MS, Christensen HA, Darsie RF, Jakob WL & Daffner JF (1987) Host feeding patterns of Argentine mosquitoes (Diptera: Culicidae) collected during and after an epizootic of Western Equine Encephalitis. *Journal of Medical Entomology* **24**:260-267.
- Miyake T, Aihara N, Maeda K, Shinzato C, Koyanagi R, Kobayashi H & Yamahira K (2019) Bloodmeal host identification with inferences to feeding habits of a fish-fed mosquito, *Aedes Baisasi*. *Scientific Reports* **9**:4002.
- Molaei G, Andreadis TG, Armstrong PM, Bueno RJr, Dennett J, Real S, Sargent C, Bala A, Randle Y, Guzman H, Travassos da Rosa A, Wuithiranyagool A & Tesh RB (2007). Host feeding pattern of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) and its role in transmission of West Nile Virus in Harris County, Texas. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **77**:73-81.
- Molaei G, Andreadis T, Armstrong P & Diuk-Wasser M (2008) Host feeding patterns of potential mosquito vectors in Connecticut, USA: molecular analysis of bloodmeals from 23 species of *Aedes*, *Anopheles*, *Culex*, *Coquillettidia*, *Psorophora*, and *Uranotaenia*. *Journal of Medical Entomology* **45**:1143-1151.
- Monath TP, Sabattini MS, Pauli R, Daffner JF, Mitchell CJ, Bowen GS & Cropp CB (1985) Arbovirus investigations in Argentina, 1977-1980. IV. Serologic surveys and sentinel equine program. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **pp**:34-75.
- Moreno M, Saavedra M, Bickersmith S, Prussing C, Michalski A, Tong Rios C, Vinetz J & Conn J (2017) Intensive trapping of blood-fed *Anopheles darlingi* in Amazonian Peru reveals unexpectedly high proportions of avian blood-meals. *PLoS Neglected Tropical Diseases* **11**:e0005337.
- Mukabana WR, Takken W & Knols B (2002) Analysis of arthropod bloodmeals using molecular genetic markers. *Trends in Parasitology* **18**:505-509.
- Municipio de Tandil (2023) Espacio Verde Público. <https://gobiernoabierto.tandil.gov.ar/acceso-informacion-publica/ambiente/espacio-verde-publico/> [accessed may 18, 2023].
- Muñoz-Vahos C, García-Jiménez E & Villa-Palacio MI (2012) Diseases related to the ABO blood group. *Hechos Microbiológicos* **3**:59-69.
- Nasci RS & Edman JD (1984) *Culiseta melanura* (Diptera: Culicidae) population structure and nectar feeding in a freshwater swamp and surrounding areas in southeastern Massachusetts, USA. *Journal of Medical Entomology* **21**:567-572.
- NCBI (2022) National Center for Biotechnology Information. GenBank.
- Nelder MP, Reeves WK, Adler PH, Wozniak A & Wills W (2009) Ectoparasites and associated pathogens of free-roaming and captive animals in zoos of South Carolina. *Vector Borne and Zoonotic Diseases* **9**:469-477.
- Nouzova M, Clifton ME & Noriega FG (2019) Mosquito adaptations to hematophagia impact pathogen transmission. *Current Opinion in Insect Science* **34**:21-26.
- Nuttall GHF (1904) Blood immunity and blood relationship. Cambridge University Press, Cambridge

- Nyasembe VO, Teal P, Mukabana W, Tumlinson J & Torto B (2012) Behavioural response of the malaria vector *Anopheles gambiae* to host plant volatiles and synthetic blends. *Parasites & Vectors* **5**:234.
- O'Meara GF & Evans DC (1977) Autogeny in saltmarsh mosquitoes induced by a substance from the male accessory gland. *Nature* **267**:342-344.
- Obame-Nkoghe J, Roiz D, Ngangue MF, Costantini C, Rahola N, Jiolle D, Lehmann D, Makaga L, Ayala D, Kengne P & Paupy C (2023) Towards the invasion of wild and rural forested areas in Gabon (Central Africa) by the Asian tiger mosquito *Aedes albopictus*: Potential risks from the one health perspective. *PLoS Neglected Tropical Diseases* **17**:e0011501.
- Observatorio AMBA (2023) ("<https://observatorioamba.org/>") [accessed may 18, 2023].
- OMS (2023a) Dengue – Situación Mundial. Disponible en <https://www.who.int/es/emergencies/disease-outbreak-news/item/2023-DON498>.
- OMS (2023b) Zika: un virus silencioso que requiere mayor vigilancia y control. Disponible en <https://www.paho.org/es/noticias/1-9-2023-zika-virus-silencioso-que-requiere-mayor-vigilancia-control>.
- OMS (2024a) Enfermedades transmitidas por vectores. Disponible en <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/vector-borne-diseases>.
- OMS (2024b) Actualización epidemiológica Encefalitis Equina del Oeste en la región de las Américas – 10 de Enero del 2024. Disponible en <https://www.paho.org/es/documentos/actualizacion-epidemiologica-encefalitis-equina-oeste-region-americas-10-enero-2024>.
- OMS (2024c) Encefalitis equina del Oeste – Uruguay. Disponible en <https://www.who.int/es/emergencies/disease-outbreak-news/item/2024-DON505>.
- OMS (2024d) Oropouche virus disease – Region of the Americas. Disponible en <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2024-DON530>.
- ONU (2020) 11- Ciudades y comunidades sostenibles. Objetivo 11: Lograr que las ciudades sean más inclusivas, seguras, resilientes y sostenibles. Disponible en <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/cities/>.
- OPS (2024) Chikungunya. Disponible en <https://www.paho.org/es/temas/chikungunya>.
- Oria GI, Spinsanti L I, Pirota VL, Martínez MF, Stechina OS, Etchepare E, Contigiani MS & Stein M (2018) Seroprevalence of Flavivirus in horses in Chaco, Argentina. Circulation during 2013-2014. *Brazilian Journal of Veterinary Medicine* **40**:e45118.
- Orsborne J, Furuya-Kanamori L, Jeffries CL, Kristan M, Mohammed AR, Afrane YA, O'Reilly K, Massad E, Drakeley C, Walker T & Yakob L (2019) Investigating the blood-host plasticity and dispersal of *Anopheles coluzzii* using a novel field-based methodology. *Parasites & Vectors* **12**:143.
- Oshaghi MA, Chavshin AR & Vatandoost H (2006) Analysis of mosquito bloodmeals using RFLP markers. *Experimental Parasitology* **114**:259-264.

- Overgaard HJ, Ekbom B, Suwonkerd W & Takagi M (2003) Effect of landscape structure on anopheline mosquito density and diversity in northern Thailand: implications for malaria transmission and control. *Landscape Ecology* **18**:605-619.
- Patefield WM (1981) Algorithm AS 159: an efficient method of generating random $R \times C$ tables with given Row and column totals. *Journal of the Royal Statistical Society Series C* **30**:91-97.
- Peach DAH, Ko E, Blake AJ & Gries G (2019) Ultraviolet inflorescence cues enhance attractiveness of inflorescence odour to *Culex pipiens* mosquitoes. *PLoS ONE* **14**:e0217484.
- Pereira LE, Susuki A, Coimbra TLM, Souza RP & Chamelet (2001) Arbovírus Ilheus em aves silvestres (*Sporophila caerulescens* e *Molothrus bonariensis*). *Revista de Saúde Pública* **31**:119-123.
- Piedrahita S, Álvarez N, Naranjo-Díaz N, Bickersmith S, Conn JE & Correa M (2022) *Anopheles* blood meal sources and entomological indicators related to *Plasmodium* transmission in malaria endemic areas of Colombia. *Acta Tropica* **233**:106567.
- Pereira-Silva JW, Nascimento VA do, Belchior HCM, Almeida JF, Pessoa FAC, Naveca FG & Ríos-Velásquez CM (2017) First evidence of Zika virus venereal transmission in *Aedes aegypti* mosquitoes. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **113**:56-61.
- Pitts RJ (2014) A blood-free protein meal supporting oogenesis in the Asian tiger mosquito, *Aedes albopictus* (Skuse). *Journal of Insect Physiology* **64**:1-6.
- Poisot T, Lepennetier G, Martinez E, Ramsayer J & Hochberg ME (2011) Resource availability affects the structure of a natural bacteria-bacteriophage community. *Biology Letters* **7**:201-204.
- Potocko A (2017) La cuenca del río Reconquista en la planificación metropolitana de Buenos Aires (Argentina). *Ámbito, problemas y propuestas. urbe. Revista Brasileira de Gestão Urbana* **9**:443-455.
- Powell JR, Tabachnick WJ, Powell JR & Tabachnick WJ (2013) History of domestication and spread of *Aedes aegypti*—a review. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **108**:11-17.
- Prosen AF, Martinez A & Carcavallo RU (1960) La familia Culicidae (Diptera) en la ribera fluvial de la Provincia de Buenos Aires. *Anales del Instituto de Medicina Regional, Resistencia* **5**:101-113.
- Pruszyński CA, Stenn T, Acevedo C, Leal AL & Burkett-Cadena ND (2020) Human blood feeding by *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in the Florida Keys and a Review of the Literature. *Journal of Medical Entomology* **57**:1640-1647.
- Quintero-Gil DC, Osorio-Benítez JE & Martínez-Gutiérrez M (2010) Competencia Vectorial: consideraciones entomológicas y su influencia sobre la epidemiología del Dengue. *IATREIA* **23**:146-156.
- R Core Team (2023) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

- Ramos HF, Nunes FG & dos Santos AM (2020) Índice de áreas verdes como estratégia ao desenvolvimento urbano sustentável das Regiões Norte, Noroeste e Meia Ponte de Goiânia-GO, Brasil. *Cuadernos de Geografía: Revista Colombiana de Geografía* **29**:86-101.
- Raña JC, Quaino OR & Paterno DH (1971) Informe sobre daños provocados por mosquitos en la zona del Departamento San Cristóbal, limítrofe con Córdoba y Santiago del Estero. Informe Técnico INTA EERA-Rafaela, Santa Fe.
- Reeves LE, Holderman CJ, Gillett-Kaufman JL, Kawahara AY & Kaufman PE (2016) Maintenance of host DNA integrity in field-preserved mosquito (Diptera: Culicidae) blood meals for identification by DNA barcoding. *Parasites & Vectors* **9**:503.
- Reeves LE, Holderman CJ, Blosser EM, Gillett-Kaufman JL, Kawahara AY, Kaufman PE & Burkett-Cadena N (2018a) Identification of *Uranotaenia sapphirina* as a specialist of annelids broadens known mosquito host use patterns. *Communications Biology* **1**:92.
- Reeves LE, Gillett-Kaufman JL, Kawahara AY & Kaufman PE (2018b) Barcoding blood meals: new vertebrate-specific primer sets for assigning taxonomic identities to host DNA from mosquito blood meals. *PLoS Neglected Tropical Diseases* **12**:e0006767.
- Ribeiro JM (1987) Role of saliva in blood-feeding by arthropods. *Annual Review of Entomology* **32**:463-478.
- Ribeiro JMC (1995) Blood-feeding arthropods: live syringes or invertebrate pharmacologists? *Infectious Agents and Disease* **4**:143-152.
- Roberts D, Peyton EL, Pinheiro F, Balderrama F & Vargas R (1985) Asociación de vectores de arbovirus con galerías arbóreas y el medio doméstico en el sureste de Bolivia. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana* **98**:417-430.
- Rodríguez MH (2006) Malaria and dengue vector biology and control in Latin America. En: Knols BGJ, Louis C (eds) Bridging laboratory and field research for genetic control of disease vectors. Springer, Dordrecht, **pp**:129-144.
- Romanello M, McGushin A, Di Napoli C, Drummond P, Hughes N, Jamart L et al. (2021) The 2021 report of the Lancet Countdown on health and climate change: code red for a healthy future. *The Lancet* **398**:1619-1662.
- Root JJ (2013) West Nile virus associations in wild mammals: a synthesis. *Archives of Virology* **158**:735-752.
- Roser M & Ritchie H (2019) Malaria. Disponible en <https://ourworldindata.org/malaria>.
- Rossi GC, Mariluis JC, Schnack JA & GR Spinelli (2002) Dípteros vectores (Culicidae y Calliphoridae) de la Provincia de Buenos Aires. Secretaría de Política Ambiental y Universidad de La Plata, Buenos Aires. *Cobiobo No. 4 – ProBiota* **3**:1-137.
- Rossi GC (2015) Annotated checklist, distribution, and taxonomic bibliography of the mosquitoes (Insecta: Diptera: Culicidae) of Argentina. *Check List* **11**:1-15.
- Roubaud E (1921) La différenciation des races zootropiques d'Anopheles et la régression spontanée du paludisme. *Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique* **14**:577-595.

- Rubio A, Cardo MV & Vezzani D (2011) Tire-breeding mosquitoes of public health importance along an urbanization gradient in Buenos Aires, Argentina. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **106**:678-684.
- Rubio A, Cardo MV, Carbajo AE & Vezzani D (2013) Imperviousness as a predictor for infestation levels of container-breeding mosquitoes in a focus of dengue and Saint Louis encephalitis in Argentina. *Acta Tropica* **128**:680-685.
- Rubio A, Cardo MV, Melgarejo-Colmenares K, Viani MJ & Vezzani D (2024) Control of container mosquitoes with triflumuron in key urban land uses and effects on non-target dipterans. *Journal of Pest Science* **97**:1033-1043.
- Rubio-Palis Y, Curtis CF, González C & Wirtz R (1994) Host choice of Anopheline mosquitoes in a malaria endemic area of western Venezuela. *Medical and Veterinary Entomology* **8**:275-280.
- Rueda LM (2008) Global diversity of mosquitoes (Insecta: Diptera: Culicidae) in freshwater. En: Balian EV, Lévêque C, Segers H, Martens K (eds) Freshwater Animal Diversity Assessment. Developments in Hydrobiology, vol 198. Springer, Dordrecht. **pp**:477-487.
- Saavedra MP, Conn JE, Alava F, Carrasco-Escobar G, Prussing C, Bickersmith SA, Sangama JL, Fernandez-Minope C, Guzman M, Tong C, Valderrama C, Vinetz JM & Gamboa D (2019) Higher risk of malaria transmission outdoors than indoors by *Nyssorhynchus darlingi* in riverine communities in the Peruvian Amazon. *Parasites & Vectors* **12**:374.
- Sabattini MS, Avilés G & Monath TP (1998) Historical, epidemiological, and ecological aspects of arboviruses in Argentina: Togaviridae, Alphavirus. En: Travassos da Rosa APA, Vasconcelos PFC, Travassos da Rosa JFS, (eds). Overview of arbovirology in Brazil and neighbouring countries. Belém: Instituto Evandro Chagas. **pp**:135-152.
- Saiz JC, Martín-Acebes MA, Blázquez AB, Escribano-Romero E, Poderoso T & Jiménez de Oya N (2021) Pathogenicity and virulence of West Nile virus revisited eight decades after its first isolation. *Virulence* **12**:1145-1173.
- Santos SC, Roberto Pie M, Carneiro da Rocha T & Navarro-Silva A (2019) Molecular identification of blood meals in mosquitoes (Diptera, Culicidae) in urban and forested habitats in southern Brazil. *PLoS ONE* **14**:e0212517.
- Scaraffia PY (2016) Chapter 12 - Disruption of mosquito blood meal protein metabolism. *Genetic Control of Malaria and Dengue*. **pp**:253-275.
- Schmidt K & Ostfeld R (2001) Biodiversity and the dilution effect in disease ecology. *Ecology* **82**:609-619.
- Segura NA, Muñoz A, Losada-Barragán M, Torres O, Rodríguez AK, Rangel H & Bello F (2021) Minireview: Epidemiological impact of arboviral diseases in Latin American countries, arbovirus-vector interactions and control strategies. *Pathogens and Disease* **79**:ftab043.
- Seijo A, Morales A, Poustis G, Romer Y, Efron E, Vilora G, Lloveras S, Giamperetti S, Puente T, Monroig J, Luppó V & Enria D (2011) Brote de encefalitis de San Luis en el área metropolitana Buenos Aires. *Medicina (Buenos Aires)* **71**:211-217.

- Sella M (1920) Relazione della campagna antianofelica di Fiumicino (1919) con speciale riguardo alla biologia degli Anofeli ed agli Anofeli infetti. *Annali d'Igiene* **30**, Supplemento 85.
- Service MW (1993) Mosquito (Culicidae). En: Lane RP, Crosskey RW (eds) Medical Insects and Arachnids. *Chapman and Hall*, London, pp:120-240.
- Silver JB (2008) Mosquito Ecology. Field Sampling Methods. 3rd ed. *Springer*, Dordrecht.
- Simpson JE, Hurtado PJ, Medlock J, Molaei G, Andreadis TG, Galvani AP & Diuk-Wasser MA (2012) Vector host-feeding preferences drive transmission of multi-host pathogens: West Nile virus as a model system. *Proceedings Biological Sciences* **279**:925-933.
- Sivan A, Shriram AN, Sunish IP & Vidhya PT (2015) Host-feeding pattern of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in heterogeneous landscapes of South Andaman, Andaman and Nicobar Islands, India. *Parasitology Research* **114**:3539-3546.
- Smith JL & Fonseca DM (2004) Rapid assays for identification of members of the *Culex* (*Culex*) *pipiens* complex, their hybrids and other sibling species (Diptera: Culicidae). *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **70**:339-345.
- Spinsanti L, Ré VE, Basualdo MD, Díaz LA, Yacci G & Contigiani MS (2000) Seroprevalencia de infección por el virus encefalitis San Luis en la provincia de Formosa. *Medicina (Buenos Aires)* **60**:474-6.
- Spinsanti LI, Ré VE, Díaz MP & Contigiani MS (2002) Age-related seroprevalence study for St. Louis encephalitis in a population from Cordoba, Argentina. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* **44**:59-62.
- Spinsanti LI, Díaz LA, Glatstein N, Arselán S, Morales MA, Farías AA, Fabbri C, Aguilar JJ, Ré VE, Frías M, Almirón WR, Hunsperger E, Siirin M, Da Rosa AT, Tesh RB, Enría D & Contigiani MS (2008) Human outbreak of St. Louis encephalitis detected in Argentina, 2005. *Journal of Clinical Virology* **42**:27-33.
- Stein M, Zalazar L, Willener JA, Almeida F & Almirón W (2013) Culicidae (Diptera) selection of humans, chickens and rabbits in three different environments in the province of Chaco, Argentina. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **108**:563-571.
- Stein M, Álvarez CN, Alonso AC, Bangher DN, Willener JA & Campos RE (2018) New records of mosquitoes (Diptera: Culicidae) found in phytotelmata in Northern Argentina. *Zootaxa* **4399**:087-100.
- Stelder JJ, Mihalca AD, Olesen AS, Kjaer LJ, Boklund AE, Rasmussen T, Marinov M, Alexe V, Balmoş O & Bodker R (2023) Potential mosquito vector attraction to- and feeding preferences for pigs in Romanian backyard farms. *Frontiers in Veterinary Science* **9**:1046263.
- Stephenson EB, Murphy AK, Jansen CC, Peel AJ & McCallum H (2019) Interpreting mosquito feeding patterns in Australia through an ecological lens: an analysis of blood meal studies. *Parasites & Vectors* **12**:156.
- Taipe-Lagos CB & Natal D (2003) Culicidae mosquito abundance in a preserved metropolitan area and its epidemiological implications. *Revista de Saúde Pública* **37**:275-279.

- Takken W & Verhulst NO (2013) Host preferences of blood-feeding mosquitoes. *Annual Review of Entomology* **58**:433-453.
- Tamashiro M, Toma T, Mannen K, Higa Y & Miyagi I (2011) Bloodmeal identification and feeding habits of mosquitoes (Diptera: Culicidae) collected at five islands in the Ryukyu Archipelago, Japan. *Medical Entomology and Zoology* **62**:53-70.
- Tandina F, Niare S, Almeras L, Davoust B, Doumbo OK, Raoult D, Parola P & Laroche M (2020) Identification of mixed and successive blood meals of mosquitoes using MALDI-TOF MS protein profiling. *Parasitology* **147**:329-339.
- Tangena JA, Thammavong P, Hiscox A, Lindsay S & Brey P (2015) The human-baited double net trap: an alternative to human landing catches for collecting outdoor biting mosquitoes in Lao PDR. *PLoS ONE* **10**:e0138735.
- Tantely ML, Guis H, Randriananjantenaina I, Raharinirina MR, Velonirina HJ, Cardinale E, Raveloarijaona N, Cetre-Sossah C, Garros C & Girod R (2022) Mosquito species associated with horses in Madagascar: a review of their vectors status with regard to the epidemiology of West Nile fever. *Medical and Veterinary Entomology* **36**:1-13.
- Tasca P, Carranza MS, Rivarola ME, Martínez F, Dominguez A, Serra V, Maders JJ & Spinsanti L (2016) Detección de anticuerpos contra flavivirus (Dengue, Encefalitis de St. Louis y West Nile) en individuos de la ciudad de Córdoba. *Revista de la Facultad de Ciencias Médicas* **1**:247-248.
- Tauro LB, Ludeña Almeida F & Contigiani M (2009) First detection of human infection by Cache Valley and Kairi viruses (Orthobunyavirus) in Argentina. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **103**:197-199.
- Tauro LB, Rivarola ME, Lucca E, Mariño B, Mazzini R, Ferreira Cardoso J, Barrandeguy ME, Teixeira Nunes MR & Contigiani MS (2015) First isolation of Bunyamwera virus (*Bunyaviridae* family) from horses with neurological disease and an abortion in Argentina. *The Veterinary Journal* **206**:111-114.
- Tempelis CH (1975) Host-feeding patterns of mosquitoes, with a review of advances in analysis of blood meals by serology. *Journal of Medical Entomology* **11**:635-653.
- Thompson WH & Beaty BJ (1977) Venereal transmission of La Crosse (California encephalitis) arbovirus in *Aedes triseriatus* mosquitoes. *Science* **196**:530-531.
- Thongsripong P, Hyman JM, Kapan DD & Bennett SN (2021) Human-Mosquito Contact: A Missing Link in Our Understanding of Mosquito-Borne Disease Transmission Dynamics. *Annals of the Entomological Society of America* **114**:397-414.
- Tiron GV, Stancu IG, Dinu S, Prioteasa FL, Fălcută E, Ceianu CS & Cotar AL (2021) Characterization and host-feeding patterns of *Culex pipiens* s.l. Taxa in a West Nile Virus-Endemic Area in Southeastern Romania. *Vector Borne and Zoonotic Diseases* **21**:713-9.
- Trawinski PR & Mackay DS (2010) Identification of environmental covariates of West Nile virus vector mosquito population abundance. *Vector Borne and Zoonotic Diseases* **10**:515-526.

- Truett GE, Heeger P, Mynatt RL, Truett AA, Walker JA & Warman ML (2000) Preparation of PCR-quality mouse genomic DNA with hot sodium hydroxide and tris (HotSHOT). *Biotechniques* **29**:52-54.
- Tung GA & Fonseca DM (2024) Internal and external drivers interact to create highly dynamic mosquito blood-feeding behaviour. *Proceedings of the Royal Society B* **291**:20241105.
- Tuten HC, Bridges WC, Paul KS & Adler PH (2012) Blood-feeding ecology of mosquitoes in zoos. *Medical and Veterinary Entomology* **26**:407-416.
- Ulloa A, Arredondo-Jiménez JI, Rodríguez MH, Fernández-Salas I & González-Cerón L (2004) Innate host selection in *Anopheles vestitipennis* from southern Mexico. *Journal of the American Mosquito Control Association* **20**:337-341.
- Unlu I, Faraji A, Indelicato N & McNelly J (2021) Do tigers hunt during the day? Diel activity of the Asian tiger mosquito, *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae), in urban and suburban habitats of North America. *PLoS Neglected Tropical Diseases* **15**:e0009438.
- Vasconcelos HB, Nunes MR, Casseb LM, Carvalho VL, Pinto da Silva EV, Silva M, Casseb SM & Vasconcelos PF (2011) Molecular epidemiology of Oropouche virus, Brazil. *Emerging Infectious Diseases* **7**:800-6.
- Vazquez-Prokopec GM, Galvin WA, Kelly R & Kitron U (2009) A new, cost-effective, battery-powered aspirator for adult mosquito collections. *Journal of Medical Entomology* **46**:1256-1259.
- Vezzani D, Velázquez SM, Soto S & Schweigmann N (2001) Environmental characteristics of the cemeteries of Buenos Aires city (Argentina) and infestation levels of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **94**:467-471.
- Vezzani D, Rubio A, Velázquez SM, Schweigmann N & Wiegand T (2005) Detailed assessment of microhabitat suitability for *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Buenos Aires, Argentina. *Acta Tropica* **95**:123-131.
- Vezzani D & Eiras D (2016) Actualización sobre Dirofilariasis en Argentina y el contexto en América. En: Berón C, Campos RE, Gleiser RM, Díaz Nieto LM, Salomón OD, Schweigmann N (eds). *Investigaciones sobre mosquitos de Argentina*. Primera edición. Universidad Nacional de Mar del Plata, Mar del Plata, **pp**:192-200.
- Villarroel E, Duque P, Peralta R, Molina G, Mendoza E, Liria-Salazar J, Navarro JC & Juri MJ (2024) New records of mosquito species from Northern Argentina. *Journal of the American Mosquito Control Association* **40**:178-181.
- Vinogradova EB (2000) *Culex Pipiens Pipiens* Mosquitoes: Taxonomy, Distribution, Ecology, Physiology, Genetics, Applied Importance and Control. Sofía: Pensoft Publishers. **250 págs.**
- Visintin AM (2012) Estructura y dinámica de la comunidad de Culicidae (Diptera) en el arco sur de la Laguna de Mar Chiquita, Córdoba, Argentina. Tesis doctoral Universidad Nacional de Córdoba **219 págs.**
- Vogels CB, van de Peppel LJ, van Vliet AJ, Westenberg M, Ibañez-Justicia A, Stroo A, Buijs J, Visser T & Koenraadt C (2016) Winter activity and aboveground hybridization between the

- two biotypes of the West Nile virus vector *Culex pipiens*. *Vector Borne Zoonotic Diseases* **15**:619-26.
- Waage JK (1979) The evolution of insect/vertebrate associations. *Biological Journal of the Linnean Society* **12**:187-224.
- Walker ED & Edman JD (1985) Feeding-site selection and blood-feeding behavior of *Aedes triseriatus* (Diptera: Culicidae) on rodent (Sciuridae) hosts. *Journal of Medical Entomology* **22**:287-294.
- Washino RK & Tempelis CH (1983) Mosquito host bloodmeal identification: Methodology and data analysis. *Annual Review of Entomology* **28**:179-201.
- Weaver SC, Ferro C, Barrera R, Boshell J & Navarro JC (2004) Venezuelan equine encephalitis. *Annual Review of Entomology* **49**:141-174.
- Wehmeyer ML, Jaworski L, Jöst, H. et al (2024) Host attraction and host feeding patterns indicate generalist feeding of *Culex pipiens* s.s. and *Cx. torrentium*. *Parasites & Vectors* **17**:369.
- Wei LL, Tom R & Kim Y (2024) Mayaro Virus: An emerging Alphavirus in the Americas. *Viruses* **16**:1297.
- Wekesa JW, Yubal B & Washino RK (1996) Spatial distribution of adult mosquitoes (Diptera: Culicidae) in habitats associated with the rice agroecosystem of Northern California. *Journal of Medical Entomology* **33**:344-350.
- Wirtz RA, Burkot TR, Andre RG, Rosenberg R, Collins WE & Roberts DR (1985) Identification of *Plasmodium vivax* sporozoites in mosquitoes using an enzyme-linked immunosorbent assay. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **34**:1048-1054.
- Woodbridge AF & Walker ED (2002) 12- Mosquitoes (Culicidae). En: Mullen GR & Durden LA (eds), primera edición, Academic Press. *Medical and Veterinary Entomology* **pp**:203-262.
- WRBU (2021) Walter Reed Biosystematics Unit. Systematic Catalog of Culicidae. [http:// www.mosquitocatalog.org/](http://www.mosquitocatalog.org/). Accessed September 2024.
- Yan J, Gangoso L, Ruiz S, Soriguer R, Figuerola J & Martínez-de la Puente J (2021) Understanding host utilization by mosquitoes: determinants, challenges and future directions. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society* **96**:1367-1385.
- Yee DA, Bermond C, Reyes-Torres LJ, Fijman NS, Scavo NA, Nelsen J & Yee SH (2022) Robust network stability of mosquitoes and human pathogens of medical importance. *Parasites & Vectors* **15**:216.
- Zimmerman R, Ribeiro Galardo A, Lounibos L, Arruda M & Wirtz R (2006) Bloodmeal hosts of *Anopheles* species (Diptera: Culicidae) in a malaria-endemic area of the Brazilian Amazon. *Journal of Medical Entomology* **43**:947-956.

*¡A quienes se
atreven!*